UNIVERSITE MOHAMMEDV –SOUISSI–
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE –RABAT

ANNEE : 2013 *THESE N° : 61*

LES D DIMÈRES :
TECHNIQUES DE DOSAGE

THESE

Présentée et soutenue publiquement le :……………………

PAR
Mlle Fatima Ezzahra ABROUKI
Née le 20 Septembre 1987 à Casablanca

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT
EN PHARMACIE

MOTS CLES : D dimères, thrombose, ELISA, Latex

MEMBRES DE JURY

Mr. A. BELMEKKI **PRESIDENT**
Professeur d’hématologie
Mme. A. MASRAR **RAPPORTEUR**
Professeur d’hématologie biologique
Mme. N. MESSAOUDI
Professeur agrégée d’hématologie biologique
Mr.A. DAMI **JUGES**
Professeur agrégé de biochimie

﴿ سُبْحَانَكَ

لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا

إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ ﴾

(البقرة: من الآية32)



UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT



DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI

ADMINISTRATION :

Doyen par intérim : Professeur Ali BENOMAR
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines
Professeur Mohammed JIDDANE
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Ali BENOMAR
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Yahia CHERRAH
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

PROFESSEURS :

Mars, Avril et Septembre 1980

1.

Mai et Octobre 1981

2.	Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih	Chirurgie Cardio-Vasculaire
3.	Pr. TAOBANE Hamid*	Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

4.	Pr. ABROUQ Ali*	Oto-Rhino-Laryngologie
5.	Pr. BENSOUDA Mohamed	Anatomie
6.	Pr. BENOSMAN Abdellatif	Chirurgie Thoracique
7.	Pr. LAHBABI Naïma ép. AMRANI	Physiologie

Novembre 1983

8.	Pr. BELLAKHDAR Fouad	Neurochirurgie
9.	Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI	Rhumatologie

Décembre 1984

10.	Pr. BOUCETTA Mohamed*	Neurochirurgie
11.	Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil	Radiothérapie
12.	Pr. MAAOUNI Abdelaziz	Médecine Interne
13.	Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi	Anesthésie -Réanimation

14.	Pr. SETTAF Abdellatif	Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

15.	Pr. BENJELLOUN Halima	Cardiologie
16.	Pr. BENSAID Younes	Pathologie Chirurgicale
17.	Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa	Neurologie
18.	Pr. IRAQI Ghali	Pneumo-phtisiologie
19.		

Janvier, Février et Décembre 1987

20.	Pr. AJANA Ali	Radiologie
21.	Pr. CHAHED OUAZZANI Houria ép.TAOBANE	Gastro-Entérologie
22.	Pr. EL FASSY FIHRI Mohamed Taoufiq	Pneumo-phtisiologie
23.	Pr. EL HAITEM Naïma	Cardiologie
24.	Pr. EL YAACOUBI Moradh	Traumatologie Orthopédie
25.	Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah	Gastro-Entérologie
26.	Pr. LACHKAR Hassan	Médecine Interne
27.	Pr. YAHYAOUI Mohamed	Neurologie

Décembre 1988

28.	Pr. BENHAMAMOUCH Mohamed Najib	Chirurgie Pédiatrique
29.	Pr. DAFIRI Rachida	Radiologie
30.	Pr. HERMAS Mohamed	Traumatologie Orthopédie
31.	Pr. TOLOUNE Farida*	Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

32.	Pr. ADNAOUI Mohamed	Médecine Interne
33.	Pr. AOUNI Mohamed	Médecine Interne
34.	Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali	Cardiologie
35.	Pr. CHAD Bouziane	Pathologie Chirurgicale
36.	Pr. CHKOFF Rachid	Pathologie Chirurgicale
37.	Pr. HACHIM Mohammed*	Médecine-Interne
38.	Pr. KHARBACH Aîcha	Gynécologie -Obstétrique
39.	Pr. MANSOURI Fatima	Anatomie-Pathologique
40.	Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda	Neurologie
41.	Pr. TAZI Saoud Anas	Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

42.	Pr. AL HAMANY Zaîtounia	Anatomie-Pathologique
43.	Pr. AZZOUZI Abderrahim	Anesthésie Réanimation
44.	Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM	Néphrologie
45.	Pr. BELKOUCHI Abdelkader	Chirurgie Générale
46.	Pr. BENABDELLAH Chahrazad	Hématologie
47.	Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif	Chirurgie Générale
48.	Pr. BENSOUDA Yahia	Pharmacie galénique
49.	Pr. BERRAHO Amina	Ophtalmologie

50.	Pr. BEZZAD Rachid	Gynécologie Obstétrique
51.	Pr. CHABRAOUI Layachi	Biochimie et Chimie
52.	Pr. CHERRAH Yahia	Pharmacologie
53.	Pr. CHOKAIRI Omar	Histologie Embryologie
54.	Pr. JANATI Idrissi Mohamed*	Chirurgie Générale
55.	Pr. KHATTAB Mohamed	Pédiatrie
56.	Pr. SOULAYMANI Rachida ép.BENCHEIKH	Pharmacologie
57.	Pr. TAOUFIK Jamal	Chimie thérapeutique

Décembre 1992

58.	Pr. AHALLAT Mohamed	Chirurgie Générale
59.	Pr. BENSOUDA Adil	Anesthésie Réanimation
60.	Pr. BOUJIDA Mohamed Najib	Radiologie
61.	Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza	Gastro-Entérologie
62.	Pr. CHRAIBI Chafiq	Gynécologie Obstétrique
63.	Pr. DAOUDI Rajae	Ophtalmologie
64.	Pr. DEHAYNI Mohamed*	Gynécologie Obstétrique
65.	Pr. EL OUAHABI Abdessamad	Neurochirurgie
66.	Pr. FELLAT Rokaya	Cardiologie
67.	Pr. GHAFIR Driss*	Médecine Interne
68.	Pr. JIDDANE Mohamed	Anatomie
69.	Pr. OUAZZANI TAIBI Med Charaf Eddine	Gynécologie Obstétrique
70.	Pr. TAGHY Ahmed	Chirurgie Générale
71.	Pr. ZOUHDI Mimoun	Microbiologie

Mars 1994

72.	Pr. AGNAOU Lahcen	Ophtalmologie
73.	Pr. BENCHERIFA Fatiha	Ophtalmologie
74.	Pr. BENJAAFAR Noureddine	Radiothérapie
75.	Pr. BENJELLOUN Samir	Chirurgie Générale
76.	Pr. BEN RAIS Nozha	Biophysique
77.	Pr. CAOUI Malika	Biophysique
78.	Pr. CHRAIBI Abdelmjid	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
79.	Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT	Gynécologie Obstétrique
80.	Pr. EL AOUAD Rajae	Immunologie
81.	Pr. EL BARDOUNI Ahmed	Traumato-Orthopédie
82.	Pr. EL HASSANI My Rachid	Radiologie
83.	Pr. EL IDRISSI LAMGHARI Abdennaceur	Médecine Interne
84.	Pr. ERROUGANI Abdelkader	Chirurgie Générale
85.	Pr. ESSAKALI Malika	Immunologie
86.	Pr. ETTAYEBI Fouad	Chirurgie Pédiatrique
87.	Pr. HADRI Larbi*	Médecine Interne
88.	Pr. HASSAM Badredine	Dermatologie
89.	Pr. IFRINE Lahssan	Chirurgie Générale
90.	Pr. JELTHI Ahmed	Anatomie Pathologique

91. Pr. MAHFOUD Mustapha — Traumatologie – Orthopédie
92. Pr. MOUDENE Ahmed* — Traumatologie- Orthopédie
93. Pr. OULBACHA Said — Chirurgie Générale
94. Pr. RHRAB Brahim — Gynécologie –Obstétrique
95. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR — Dermatologie
96.

Mars 1994

97. Pr. ABBAR Mohamed* — Urologie
98. Pr. ABDELHAK M'barek — Chirurgie – Pédiatrique
99. Pr. BELAIDI Halima — Neurologie
100. Pr. BRAHMI Rida Slimane — Gynécologie Obstétrique
101. Pr. BENTAHILA Abdelali — Pédiatrie
102. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali — Gynécologie – Obstétrique
103. Pr. BERRADA Mohamed Saleh — Traumatologie – Orthopédie
104. Pr. CHAMI Ilham — Radiologie
105. Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae — Ophtalmologie
106. Pr. EL ABBADI Najia — Neurochirurgie
107. Pr. HANINE Ahmed* — Radiologie
108. Pr. JALIL Abdelouahed — Chirurgie Générale
109. Pr. LAKHDAR Amina — Gynécologie Obstétrique
110. Pr. MOUANE Nezha — Pédiatrie

Mars 1995

111. Pr. ABOUQUAL Redouane — Réanimation Médicale
112. Pr. AMRAOUI Mohamed — Chirurgie Générale
113. Pr. BAIDADA Abdelaziz — Gynécologie Obstétrique
114. Pr. BARGACH Samir — Gynécologie Obstétrique
115. Pr. BEDDOUCHE Amoqrane* — Urologie
116. Pr. CHAARI Jilali* — Médecine Interne
117. Pr. DIMOU M'barek* — Anesthésie Réanimation
118. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine* — Anesthésie Réanimation
119. Pr. EL MESNAOUI Abbes — Chirurgie Générale
120. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila — Oto-Rhino-Laryngologie
121. Pr. FERHATI Driss — Gynécologie Obstétrique
122. Pr. HASSOUNI Fadil — Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
123. Pr. HDA Abdelhamid* — Cardiologie
124. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed — Urologie
125. Pr. IBRAHIMY Wafaa — Ophtalmologie
126. Pr. MANSOURI Aziz — Radiothérapie
127. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia — Ophtalmologie
128. Pr. SEFIANI Abdelaziz — Génétique
129. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali — Réanimation Médicale

Décembre 1996

130.	Pr. AMIL Touriya*	Radiologie
131.	Pr. BELKACEM Rachid	Chirurgie Pédiatrie
132.	Pr. BOULANOUAR Abdelkrim	Ophtalmologie
133.	Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan	Chirurgie Générale
134.	Pr. GAOUZI Ahmed	Pédiatrie
135.	Pr. MAHFOUDI M'barek*	Radiologie
136.	Pr. MOHAMMADINE EL Hamid	Chirurgie Générale
137.	Pr. MOHAMMADI Mohamed	Médecine Interne
138.	Pr. MOULINE Soumaya	Pneumo-phtisiologie
139.	Pr. OUADGHIRI Mohamed	Traumatologie-Orthopédie
140.	Pr. OUZEDDOUN Naima	Néphrologie
141.	Pr. ZBIR EL Mehdi*	Cardiologie

Novembre 1997

142.	Pr. ALAMI Mohamed Hassan	Gynécologie-Obstétrique
143.	Pr. BEN AMAR Abdesselem	Chirurgie Générale
144.	Pr. BEN SLIMANE Lounis	Urologie
145.	Pr. BIROUK Nazha	Neurologie
146.	Pr. CHAOUIR Souad*	Radiologie
147.	Pr. DERRAZ Said	Neurochirurgie
148.	Pr. ERREIMI Naima	Pédiatrie
149.	Pr. FELLAT Nadia	Cardiologie
150.	Pr. GUEDDARI Fatima Zohra	Radiologie
151.	Pr. HAIMEUR Charki*	Anesthésie Réanimation
152.	Pr. KADDOURI Noureddine	Chirurgie Pédiatrique
153.	Pr. KOUTANI Abdellatif	Urologie
154.	Pr. LAHLOU Mohamed Khalid	Chirurgie Générale
155.	Pr. MAHRAOUI CHAFIQ	Pédiatrie
156.	Pr. NAZI M'barek*	Cardiologie
157.	Pr. OUAHABI Hamid*	Neurologie
158.	Pr. TAOUFIQ Jallal	Psychiatrie
159.	Pr. YOUSFI MALKI Mounia	Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

160.	Pr. AFIFI RAJAA	Gastro-Entérologie
161.	Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*	Pneumo-phtisiologie
162.	Pr. ALOUANE Mohammed*	Oto-Rhino-Laryngologie
163.	Pr. BENOMAR ALI	Neurologie
164.	Pr. BOUGTAB Abdesslam	Chirurgie Générale
165.	Pr. ER RIHANI Hassan	Oncologie Médicale
166.	Pr. EZZAITOUNI Fatima	Néphrologie
167.	Pr. LAZRAK Khalid *	Traumatologie Orthopédie

Novembre 1998

168.	Pr. BENKIRANE Majid*	Hématologie
169.	Pr. KHATOURI ALI*	Cardiologie
170.	Pr. LABRAIMI Ahmed*	Anatomie Pathologique

Janvier 2000

171.	Pr. ABID Ahmed*	Pneumophtisiologie
172.	Pr. AIT OUMAR Hassan	Pédiatrie
173.	Pr. BENCHERIF My Zahid	Ophtalmologie
174.	Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd	Pédiatrie
175.	Pr. BOURKADI Jamal-Eddine	Pneumo-phtisiologie
176.	Pr. CHAOUI Zineb	Ophtalmologie
177.	Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer	Chirurgie Générale
178.	Pr. ECHARRAB El Mahjoub	Chirurgie Générale
179.	Pr. EL FTOUH Mustapha	Pneumo-phtisiologie
180.	Pr. EL MOSTARCHID Brahim*	Neurochirurgie
181.	Pr. EL OTMANY Azzedine	Chirurgie Générale
182.	Pr. HAMMANI Lahcen	Radiologie
183.	Pr. ISMAILI Mohamed Hatim	Anesthésie-Réanimation
184.	Pr. ISMAILI Hassane*	Traumatologie Orthopédie
185.	Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss	Gastro-Entérologie
186.	Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*	Anesthésie-Réanimation
187.	Pr. TACHINANTE Rajae	Anesthésie-Réanimation
188.	Pr. TAZI MEZALEK Zoubida	Médecine Interne

Novembre 2000

189.	Pr. AIDI Saadia	Neurologie
190.	Pr. AIT OURHROUI Mohamed	Dermatologie
191.	Pr. AJANA Fatima Zohra	Gastro-Entérologie
192.	Pr. BENAMR Said	Chirurgie Générale
193.	Pr. BENCHEKROUN Nabiha	Ophtalmologie
194.	Pr. CHERTI Mohammed	Cardiologie
195.	Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma	Anesthésie-Réanimation
196.	Pr. EL HASSANI Amine	Pédiatrie
197.	Pr. EL IDGHIRI Hassan	Oto-Rhino-Laryngologie
198.	Pr. EL KHADER Khalid	Urologie
199.	Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*	Rhumatologie
200.	Pr. GHARBI Mohamed El Hassan	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
201.	Pr. HSSAIDA Rachid*	Anesthésie-Réanimation
202.	Pr. LAHLOU Abdou	Traumatologie Orthopédie
203.	Pr. MAFTAH Mohamed*	Neurochirurgie
204.	Pr. MAHASSINI Najat	Anatomie Pathologique
205.	Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae	Pédiatrie
206.	Pr. NASSIH Mohamed*	Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
207.	Pr. ROUIMI Abdelhadi	Neurologie

Décembre 2001

208. Pr. ABABOU Adil — Anesthésie-Réanimation
209. Pr. BALKHI Hicham* — Anesthésie-Réanimation
210. Pr. BELMEKKI Mohammed — Ophtalmologie
211. Pr. BENABDELJLIL Maria — Neurologie
212. Pr. BENAMAR Loubna — Néphrologie
213. Pr. BENAMOR Jouda — Pneumo-phtisiologie
214. Pr. BENELBARHDADI Imane — Gastro-Entérologie
215. Pr. BENNANI Rajae — Cardiologie
216. Pr. BENOUACHANE Thami — Pédiatrie
217. Pr. BENYOUSSEF Khalil — Dermatologie
218. Pr. BERRADA Rachid — Gynécologie Obstétrique
219. Pr. BEZZA Ahmed* — Rhumatologie
220. Pr. BOUCHIKHI IDRISSI Med Larbi — Anatomie
221. Pr. BOUHOUCH Rachida — Cardiologie
222. Pr. BOUMDIN El Hassane* — Radiologie
223. Pr. CHAT Latifa — Radiologie
224. Pr. CHELLAOUI Mounia — Radiologie
225. Pr. DAALI Mustapha* — Chirurgie Générale
226. Pr. DRISSI Sidi Mourad* — Radiologie
227. Pr. EL HAJOUJI Ghziel Samira — Gynécologie Obstérique
228. Pr. EL HIJRI Ahmed — Anesthésie-Réanimation
229. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid — Neuro-Chirurgie
230. Pr. EL MADHI Tarik — Chirurgie-Pédiatrique
231. Pr. EL MOUSSAIF Hamid — Ophtalmologie
232. Pr. EL OUNANI Mohamed — Chirurgie Générale
233. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil — Radiologie
234. Pr. ETTAIR Said — Pédiatrie
235. Pr. GAZZAZ Miloudi* — Neuro-Chirurgie
236. Pr. GOURINDA Hassan — Chirurgie-Pédiatrique
237. Pr. HRORA Abdelmalek — Chirurgie Générale
238. Pr. KABBAJ Saad — Anesthésie-Réanimation
239. Pr. KABIRI EL Hassane* — Chirurgie Thoracique
240. Pr. LAMRANI Moulay Omar — Traumatologie Orthopédie
241. Pr. LEKEHAL Brahim — Chirurgie Vasculaire Périphérique
242. Pr. MAHASSIN Fattouma* — Médecine Interne
243. Pr. MEDARHRI Jalil — Chirurgie Générale
244. Pr. MIKDAME Mohammed* — Hématologie Clinique
245. Pr. MOHSINE Raouf — Chirurgie Générale
246. Pr. NOUINI Yassine — Urologie
247. Pr. SABBAH Farid — Chirurgie Générale
248. Pr. SEFIANI Yasser — Chirurgie Vasculaire Périphérique
249. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia — Pédiatrie

Décembre 2002

250. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*	Anatomie Pathologique
251. Pr. AMEUR Ahmed *	Urologie
252. Pr. AMRI Rachida	Cardiologie
253. Pr. AOURARH Aziz*	Gastro-Entérologie
254. Pr. BAMOU Youssef *	Biochimie-Chimie
255. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
256. Pr. BENBOUAZZA Karima	Rhumatologie
257. Pr. BENZEKRI Laila	Dermatologie
258. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*	Gastro-Entérologie
259. Pr. BERNOUSSI Zakiya	Anatomie Pathologique
260. Pr. BICHRA Mohamed Zakariya	Psychiatrie
261. Pr. CHOHO Abdelkrim *	Chirurgie Générale
262. Pr. CHKIRATE Bouchra	Pédiatrie
263. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair	Chirurgie Pédiatrique
264. Pr. EL ALJ Haj Ahmed	Urologie
265. Pr. EL BARNOUSSI Leila	Gynécologie Obstétrique
266. Pr. EL HAOURI Mohamed *	Dermatologie
267. Pr. EL MANSARI Omar*	Chirurgie Générale
268. Pr. ES-SADEL Abdelhamid	Chirurgie Générale
269. Pr. FILALI ADIB Abdelhai	Gynécologie Obstétrique
270. Pr. HADDOUR Leila	Cardiologie
271. Pr. HAJJI Zakia	Ophtalmologie
272. Pr. IKEN Ali	Urologie
273. Pr. ISMAEL Farid	Traumatologie Orthopédie
274. Pr. JAAFAR Abdeloihab*	Traumatologie Orthopédie
275. Pr. KRIOUILE Yamina	Pédiatrie
276. Pr. LAGHMARI Mina	Ophtalmologie
277. Pr. MABROUK Hfid*	Traumatologie Orthopédie
278. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*	Gynécologie Obstétrique
279. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*	Cardiologie
280. Pr. MOUSTAINE My Rachid	Traumatologie Orthopédie
281. Pr. NAITLHO Abdelhamid*	Médecine Interne
282. Pr. OUJILAL Abdelilah	Oto-Rhino-Laryngologie
283. Pr. RACHID Khalid *	Traumatologie Orthopédie
284. Pr. RAISS Mohamed	Chirurgie Générale
285. Pr. RGUIBI IDRISSI Sidi Mustapha*	Pneumophtisiologie
286. Pr. RHOU Hakima	Néphrologie
287. Pr. SIAH Samir *	Anesthésie Réanimation
288. Pr. THIMOU Amal	Pédiatrie
289. Pr. ZENTAR Aziz*	Chirurgie Générale

PROFESSEURS AGREGES :

Janvier 2004

290.	Pr. ABDELLAH El Hassan	Ophtalmologie
291.	Pr. AMRANI Mariam	Anatomie Pathologique
292.	Pr. BENBOUZID Mohammed Anas	Oto-Rhino-Laryngologie
293.	Pr. BENKIRANE Ahmed*	Gastro-Entérologie
294.	Pr. BOUGHALEM Mohamed*	Anesthésie Réanimation
295.	Pr. BOULAADAS Malik	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
296.	Pr. BOURAZZA Ahmed*	Neurologie
297.	Pr. CHAGAR Belkacem*	Traumatologie Orthopédie
298.	Pr. CHERRADI Nadia	Anatomie Pathologique
299.	Pr. EL FENNI Jamal*	Radiologie
300.	Pr. EL HANCHI ZAKI	Gynécologie Obstétrique
301.	Pr. EL KHORASSANI Mohamed	Pédiatrie
302.	Pr. EL YOUNASSI Badreddine*	Cardiologie
303.	Pr. HACHI Hafid	Chirurgie Générale
304.	Pr. JABOUIRIK Fatima	Pédiatrie
305.	Pr. KARMANE Abdelouahed	Ophtalmologie
306.	Pr. KHABOUZE Samira	Gynécologie Obstétrique
307.	Pr. KHARMAZ Mohamed	Traumatologie Orthopédie
308.	Pr. LEZREK Mohammed*	Urologie
309.	Pr. MOUGHIL Said	Chirurgie Cardio-Vasculaire
310.	Pr. SASSENOU ISMAIL*	Gastro-Entérologie
311.	Pr. TARIB Abdelilah*	Pharmacie Clinique
312.	Pr. TIJAMI Fouad	Chirurgie Générale
313.	Pr. ZARZUR Jamila	Cardiologie

Janvier 2005

314.	Pr. ABBASSI Abdellah	Chirurgie Réparatrice et Plastique
315.	Pr. AL KANDRY Sif Eddine*	Chirurgie Générale
316.	Pr. ALAOUI Ahmed Essaid	Microbiologie
317.	Pr. ALLALI Fadoua	Rhumatologie
318.	Pr. AMAZOUZI Abdellah	Ophtalmologie
319.	Pr. AZIZ Noureddine*	Radiologie
320.	Pr. BAHIRI Rachid	Rhumatologie
321.	Pr. BARKAT Amina	Pédiatrie
322.	Pr. BENHALIMA Hanane	Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
323.	Pr. BENHARBIT Mohamed	Ophtalmologie
324.	Pr. BENYASS Aatif	Cardiologie
325.	Pr. BERNOUSSI Abdelghani	Ophtalmologie
326.	Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed	Ophtalmologie
327.	Pr. DOUDOUH Abderrahim*	Biophysique
328.	Pr. EL HAMZAOUI Sakina	Microbiologie
329.	Pr. HAJJI Leila	Cardiologie
330.	Pr. HESSISSEN Leila	Pédiatrie

331. Pr. JIDAL Mohamed* Radiologie
332. Pr. KARIM Abdelouahed Ophtalmologie
333. Pr. KENDOUSSI Mohamed* Cardiologie
334. Pr. LAAROUSSI Mohamed Chirurgie Cardio-vasculaire
335. Pr. LYAGOUBI Mohammed Parasitologie
336. Pr. NIAMANE Radouane* Rhumatologie
337. Pr. RAGALA Abdelhak Gynécologie Obstétrique
338. Pr. SBIHI Souad Histo-Embryologie Cytogénétique
339. Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam Ophtalmologie
340. Pr. ZERAIDI Najia Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

423. Pr. ACHEMLAL Lahsen* Rhumatologie
425. Pr. AKJOUJ Said* Radiologie
427. Pr. BELMEKKI Abdelkader* Hématologie
428. Pr. BENCHEIKH Razika O.R.L
429 Pr. BIYI Abdelhamid* Biophysique
430. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine Chirurgie - Pédiatrique
431. Pr. BOULAHYA Abdellatif* Chirurgie Cardio – Vasculaire
432. Pr. CHEIKHAOUI Younes Chirurgie Cardio – Vasculaire
433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas Gynécologie Obstétrique
434. Pr. DOGHMI Nawal Cardiologie
435. Pr. ESSAMRI Wafaa Gastro-entérologie
436. Pr. FELLAT Ibtissam Cardiologie
437. Pr. FAROUDY Mamoun Anesthésie Réanimation
438. Pr. GHADOUANE Mohammed* Urologie
439. Pr. HARMOUCHE Hicham Médecine Interne
440. Pr. HANAFI Sidi Mohamed* Anesthésie Réanimation
441 Pr. IDRISS LAHLOU Amine Microbiologie
442. Pr. JROUNDI Laila Radiologie
443. Pr. KARMOUNI Tariq Urologie
444. Pr. KILI Amina Pédiatrie
445. Pr. KISRA Hassan Psychiatrie
446. Pr. KISRA Mounir Chirurgie – Pédiatrique
447. Pr. KHARCHAFI Aziz* Médecine Interne
448. Pr. LAATIRIS Abdelkader* Pharmacie Galénique
449. Pr. LMIMOUNI Badreddine* Parasitologie
450. Pr. MANSOURI Hamid* Radiothérapie
451. Pr. NAZIH Naoual O.R.L
452. Pr. OUANASS Abderrazzak Psychiatrie
453. Pr. SAFI Soumaya* Endocrinologie
454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra Psychiatrie
455. Pr. SEFIANI Sana Anatomie Pathologique
456. Pr. SOUALHI Mouna Pneumo – Phtisiologie
457. Pr. TELLAL Saida* Biochimie

458. Pr. ZAHRAOUI Rachida — Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

458.	
459. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid	Anesthésie réanimation
460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid	Anesthésier réanimation
461. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar *	Anesthésie réanimation
462. Pr. BAITE Abdelouahed *	Anesthésie réanimation
463. Pr. TOUATI Zakia	Cardiologie
464. Pr. OUZZIF Ez zohra *	Biochimie
465. Pr. BALOUCH Lhousaine *	Biochimie
466. Pr. SELKANE Chakir *	Chirurgie cardio vasculaire
467. Pr. EL BEKKALI Youssef *	Chirurgie cardio vasculaire
468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi *	Chirurgie cardio vasculaire
469. Pr. EL ABSI Mohamed	Chirurgie générale
470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *	Chirurgie générale
471. Pr. ACHOUR Abdessamad *	Chirurgie générale
472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq *	Chirurgie générale
473. Pr. GHARIB Noureddine	Chirurgie plastique
474. Pr. TABERKANET Mustafa *	Chirurgie vasculaire périphérique
475. Pr. ISMAILI Nadia	Dermatologie
476. Pr. MASRAR Azlarab	Hématologie biologique
477. Pr. RABHI Monsef *	Médecine interne
478. Pr. MRABET Mustapha *	Médecine préventive santé publique et hygiène
479. Pr. SEKHSOKH Yessine *	Microbiologie
480. Pr. SEFFAR Myriame	Microbiologie
481. Pr. LOUZI Lhoussain *	Microbiologie
482. Pr. MRANI Saad *	Virologie
483. Pr. GANA Rachid	Neuro chirurgie
484. Pr. ICHOU Mohamed *	Oncologie médicale
485. Pr. TACHFOUTI Samira	Ophtalmologie
486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine	Ophtalmologie
487. Pr. MELLAL Zakaria	Ophtalmologie
488. Pr. AMMAR Haddou *	ORL
489. Pr. AOUFI Sarra	Parasitologie
490. Pr. TLIGUI Houssain	Parasitologie
491. Pr. MOUTAJ Redouane *	Parasitologie
492. Pr. ACHACHI Leila	Pneumo phtisiologie
493. Pr. MARC Karima	Pneumo phtisiologie
494. Pr. BENZIANE Hamid *	Pharmacie clinique
495. Pr. CHERKAOUI Naoual *	Pharmacie galénique
496. Pr. EL OMARI Fatima	Psychiatrie
497. Pr. MAHI Mohamed *	Radiologie
498. Pr. RADOUANE Bouchaib *	Radiologie
499. Pr. KEBDANI Tayeb	Radiothérapie

500. Pr. SIFAT Hassan *	Radiothérapie
501. Pr. HADADI Khalid *	Radiothérapie
502. Pr. ABIDI Khalid	Réanimation médicale
503. Pr. MADANI Naoufel	Réanimation médicale
504. Pr. TANANE Mansour *	Traumatologie orthopédie
505. Pr. AMHAJJI Larbi *	Traumatologie orthopédie

Décembre 2008

Pr TAHIRI My El Hassan*	Chirurgie Générale
Pr ZOUBIR Mohamed*	Anesthésie Réanimation

Mars 2009

Pr. BJIJOU Younes	Anatomie
Pr. AZENDOUR Hicham *	Anesthésie Réanimation
Pr. BELYAMANI Lahcen *	Anesthésie Réanimation
Pr. BOUHSAIN Sanae *	Biochimie
Pr. OUKERRAJ Latifa	Cardiologie
Pr. LAMSAOURI Jamal *	Chimie Thérapeutique
Pr. MARMADE Lahcen	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AMAHZOUNE Brahim *	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AIT ALI Abdelmounaim *	Chirurgie Générale
Pr. BOUNAIM Ahmed *	Chirurgie Générale
Pr. EL MALKI Hadj Omar	Chirurgie Générale
Pr. MSSROURI Rahal	Chirurgie Générale
Pr. CHTATA Hassan Toufik *	Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pr. BOUI Mohammed *	Dermatologie
Pr. KABBAJ Nawal	Gastro-entérologie
Pr. FATHI Khalid	Gynécologie obstétrique
Pr. MESSAOUDI Nezha *	Hématologie biologique
Pr. CHAKOUR Mohammed *	Hématologie biologique
Pr. DOGHMI Kamal *	Hématologie clinique
Pr. ABOUZAHIR Ali*	Médecine interne
Pr. ENNIBI Khalid *	Médecine interne
Pr. EL OUENNASS Mostapha	Microbiologie
Pr. ZOUHAIR Said*	Microbiologie
Pr. L'KASSIMI Hachemi*	Microbiologie
Pr. AKHADDAR Ali *	Neuro-chirurgie
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia	Neurologie
Pr. AGADR Aomar *	Pédiatrie
Pr. KARBOUBI Lamya	Pédiatrie
Pr. MESKINI Toufik	Pédiatrie
Pr. KABIRI Meryem	Pédiatrie
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *	Pneumo-phtisiologie
Pr. BASSOU Driss *	Radiologie
Pr. ALLALI Nazik	Radiologie

Pr. NASSAR Ittimade | Radiologie
Pr. HASSIKOU Hasna * | Rhumatologie
Pr. AMINE Bouchra | Rhumatologie
Pr. BOUSSOUGA Mostapha * | Traumatologie orthopédique
Pr. KADI Said * | Traumatologie orthopédique

Octobre 2010

Pr. AMEZIANE Taoufiq*	Médecine interne
Pr. ERRABIH Ikram	Gastro entérologie
Pr. CHERRADI Ghizlan	Cardiologie
Pr. MOSADIK Ahlam	Anesthésie Réanimation
Pr. ALILOU Mustapha	Anesthésie réanimation
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*	Radiologie
Pr. DARBI Abdellatif*	Radiologie
Pr. EL HAFIDI Naima	Pédiatrie
Pr. MALIH Mohamed*	Pédiatrie
Pr. BOUSSIF Mohamed*	Médecine aérotique
Pr. EL MAZOUZ Samir	Chirurgie plastique et réparatrice
Pr. DENDANE Mohammed Anouar	Chirurgie pédiatrique
Pr. EL SAYEGH Hachem	Urologie
Pr. MOUJAHID Mountassir*	Chirurgie générale
Pr. RAISSOUNI Zakaria*	Traumatologie Orthopédie
Pr. BOUAITY Brahim*	ORL
Pr. LEZREK Mounir	Ophtalmologie
Pr. NAZIH Mouna*	Hématologie
Pr. LAMALMI Najat	Anatomie pathologique
Pr. ZOUAIDIA Fouad	Anatomie pathologique
Pr. BELAGUID Abdelaziz	Physiologie
Pr. DAMI Abdellah*	Biochimie chimie
Pr. CHADLI Mariama*	Microbiologie

Mai 2012

Pr. Abdelouahed AMRANI	Chirurgie Pédiatrique
Pr. Mounir ER-RAJI	Chirurgie Pédiatrique
Pr. Mouna EL ALAOUI MHAMDI	Chirurgie Générale
Pr. Ahmed JAHID	Anatomie Pathologique
Pr. ABOUELALAA Khalil*	Anesthésie Réanimation
Pr. DRISSI Mohamed*	Anesthésie Réanimation
Pr. RAISSOUNI Maha*	Cardiologie
Pr. EL KHATTABI Abdessadek*	Médecine Interne
Pr. MEHSSANI Jamal*	Psychiatrie
Pr. BELAIZI Mohamed*	Psychiatrie
Pr. EL OUAZZANI Hanane*	Pneumophtisiologie
Pr. BENCHEBBA Drissi*	Traumatologie Orthopédique

<u>ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES</u>
PROFESSEURS

1.	Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
2.	Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie
3.	Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
4.	Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
5.	Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
6.	Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
7.	Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
8.	Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
9.	Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia	Biochimie
10.	Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
11.	Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
12.	Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
13.	Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootechnie
14.	Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
15.	Pr. HMAMOUCHI Mohamed	Chimie Organique
16.	Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biotechnologie
17.	Pr. KABBAJ Ouafae	Biochimie
18.	Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
19.	Pr. REDHA Ahlam	Biochimie
20.	Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSI M^{ed}	Chimie Organique
21.	Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
22.	Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
23.	Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

**** Enseignants Militaires***

DEDICACES



Louange à Dieu

Que la prière et le salut soit sur le prophète.

Que ce présent mémoire présente mon aviné.

Je dédie ce travail:

A mes grands parents : Ahmed et Dami

J'aurais aimé vous voir aujourd'hui parmi l'assistance.

Que Dieu repose vos âmes en paix.

A mes oncles : Hassan, Abdelghani et Abderahman

J'aurais aimé vous voir aujourd'hui parmi l'assistance.

Que Dieu repose vos âmes en paix.

A mes chèrs parents: Abdessalam et Izza

Il y a tant de choses à en sécher tout l'encre de ce monde mais aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect et mon profond amour.

Je ne vais jamais oublier vos sacrifices pour moi...

Votre générosité sans limite, vos sacrifices, votre présence et vos conseilles qui m'ont beaucoup servi dans mes études.

Vos récoltez dans ce travail les fruits de vos efforts, votre présence faisait naître en moi l'espoir nécessaire pour aller de l'avant.

Que Dieu vous garde et vous procure santé, longue vie et bonheur éternel.



A mes frères et mes sœurs
Fatiha,Nadia,Hanane,Leila,Abdessamad et Yassine

Chacun de vous possède dans ma vie une place originale, l'estime la chaleur et l'amour qui nous unissent.

Je suis très heureux de pouvoir vous présenter par ce travail le témoignage de mon profond amour et les liens de fraternité qui nous unissent.

Je vous souhaite une vie pleine de joie et de réussite.

A mes chères amies : Zineb, Fatiha, Kawtar

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect.

Que Dieu vous garde en bonne santé et vous donne la joie et le bonheur.



A la mémoire de mes oncles :

Mohamed,Mostapha,Abdellah,Nourddine,Boujamaa,Ahmed

Je vous exprime ma reconnaissance et mon respect
Que ce travail soit l'expression de mon grand attachement.
Je vous souhaite une vie pleine de bonheur.

A mes tantes : Tahra,Khadija,Saidia,Fatima,Zakia

En témoignage du sentiment profond que je vous porte
Je vous souhaite une longue vie pleine le bonheur.



A mes amies et collègues pharmacien(ne) :

Merci pour tous les bons moments qu'on a passé ensemble en quête de savoir.

Que vous souhaiter de mieux que le bonheur et le succès tout au long de votre vie.

A tous les membres de la famille Abrouki et Gallaoui: petits et grands:

A toute personne qui a contribué de près ou loin à la réalisation de ce travail.

Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

REMERCIEMENTS

A notre Maître et
Président de Thèse
Mr. Le Professeur A. BELMEKKI
Professeur d'hématologie

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de ce travail.
Nous avons pour vous l'estime et le respect qu'imposent votre compétence, votre sérieux et votre richesse d'enseignement.
Veuillez trouver, cher maître, dans ce modeste travail, l'expression de notre très haute considération et notre profonde gratitude.

A notre maître et
Rapporteur de thèse
Mr. Le Professeur A.MASRAR
Professeur Agrégé d'Hématologie Biologique

Vous avez bien voulu nous confier ce travail riche d'intérêt et nous guider à chaque étape de sa réalisation.

Vous nous avez toujours réservé le meilleur accueil, malgré vos obligations professionnelles.

Vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre gentillesse méritent toute admiration Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect.

A notre maître et juge de thèse
Mde. le professeur N.MESSAOUDI
Professeur agrégée d'Hématologie biologique

Nous sommes très sensibles par l''honneur que vous nous faites en acceptant de juger notre travail.
Je vous suis très reconnaissant de la spontanéité et de l'amabilité avec lesquelles vous avez accepté de juger ce travail.
Veuillez trouver, cher maître, à travers ce modeste travail la manifestation de notre plus haute estime et de nos sentiments les plus respectueux.

A Notre Maître et
Juge de Thèse
Mr. Le professeur. A.DAMI
Professeur de biochimie

Vous avez accepté en toute simplicité de juger ce travail et c'est pour nous un grand honneur de vous voir siéger parmi notre jury de thèse.

Veuillez trouver, cher maître, à travers ce modeste travail
La manifestation de notre plus haute estime et de nos sentiments les plus respectueux.

Au docteur Iraqi Abdalilah et docteur Yahyaoui Anas

Vous m'avez beaucoup aidé dans la réalisation de ce travail

Que ce travail soit une occasion de vous exprimer notre gratitude, notre respect et

notre admiration les plus sincères.

Liste des figures

Liste des tableaux


SOMMAIRE

Liste des abréviations

DD : D dimères

MTE : Maladie thrombo embolique

EP : Embolie pulmonaire

TVP : Thrombose veineuse pulmonaire

MTEV : Maladie thrombo embolique veineuse

CIVD : Coagulation intravasculaire disséminée

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

ELFA : Enzyme linked immunofluorescent assay

PDF : Produit de dégradation de fibrine ou de fibrinogène

RV : Rapport de vraissemblence

NNT : Nombre négatif testé

FEU : fibrinogène équivalent unité

UFC : unité équivalente fibrinogène

AVK : Anticoagulant vitamine K

Introduction :

Découverts en 1973, les D-dimères (DD), produits de dégradation de la fibrine et constituant principal du caillot sanguin, font aujourd'hui partie des examens de routine des laboratoires. Leur champ d'application continue de faire l'objet de nombreuses études.
C'est à la fin des années 80 que les D-dimères furent pour la première fois proposés comme un test d'exclusion d'abord de la thrombose veineuse profonde (TVP) (1, 2) puis de l'embolie pulmonaire (EP) (3, 4). Ils ont depuis été largement étudiés en tant qu'outil diagnostique dans la maladie thromboembolique (MTE) et intégrés dans les stratégies diagnostiques chez les patients cliniquement suspects.
Quelques travaux ont aussi évalué leur intérêt potentiel dans d'autres pathologies comme la détéction de la CIVD (coagulation intravasculaire disséminée), la dissection aortique, la thrombose veineuse cérébrale…etc.
L'objectif de notre sujet de thèse est de souligner l'importance des techniques de dosage des D dimères, tout en rapportant les principes et les protocoles de ces techniques. Il s'agit de trois familles de kits disponibles sur le marché : Techniques ELISA, considérées comme la méthode de référence, les techniques d'agglutination de nouvelle génération, sensibilisée et le plus souvent automatisables faisant appel à des techniques d'immunoturbidimétrie ou d'immunofluorescence et les techniques d'hémagglutination sur sang total qui permettent une détermination rapide mais uniquement qualitative. La valeur de seuil critique habituellement utilisée dans les études consacrées aux D-dimères est de 500 µg/L.
Ces méthodes se différencient par la technique immunologique, par le matériel sanguin (plasma, sang total…), la spécificité des anticorps monoclonaux utilisés (8). Toutes ces différences ont un impact sur les caractéristiques diagnostiques et les performances des tests (9, 10). Il est important de noter que la sensibilité et la spécificité du dosage des D-dimères varient selon le type de test utilisé (Elisa, turbidimétrie ou hémagglutination) et du seuil de positivité choisi [11].

Partie 1 : Rappel historique des D Dimères

1. formation des D Dimères :

1.1 Structure des D Dimères :

Les D-dimères sont des produits de dégradation spécifiques de la fibrine. Ils regroupent un ensemble de molécules de taille moléculaire variable mais qui comportent toutes un motif protéique commun : le motif D-D (Fig. 1). Le Produit final de l'action protéolytique de la plasmine sur la fibrine, lors de l'étape de fibrinolyse, conduit à des fragments protéiques dimériques : les D-dimères de masse moléculaire de l'ordre de 195 kDa. Il est cependant fréquent de rencontrer dans la circulation un mélange de fragments (dimères, trimères, tétramères) contenant un ou plusieurs motifs D-D en raison de l'action partielle de la plasmine sur le réseau de fibrine (Fig. 1).

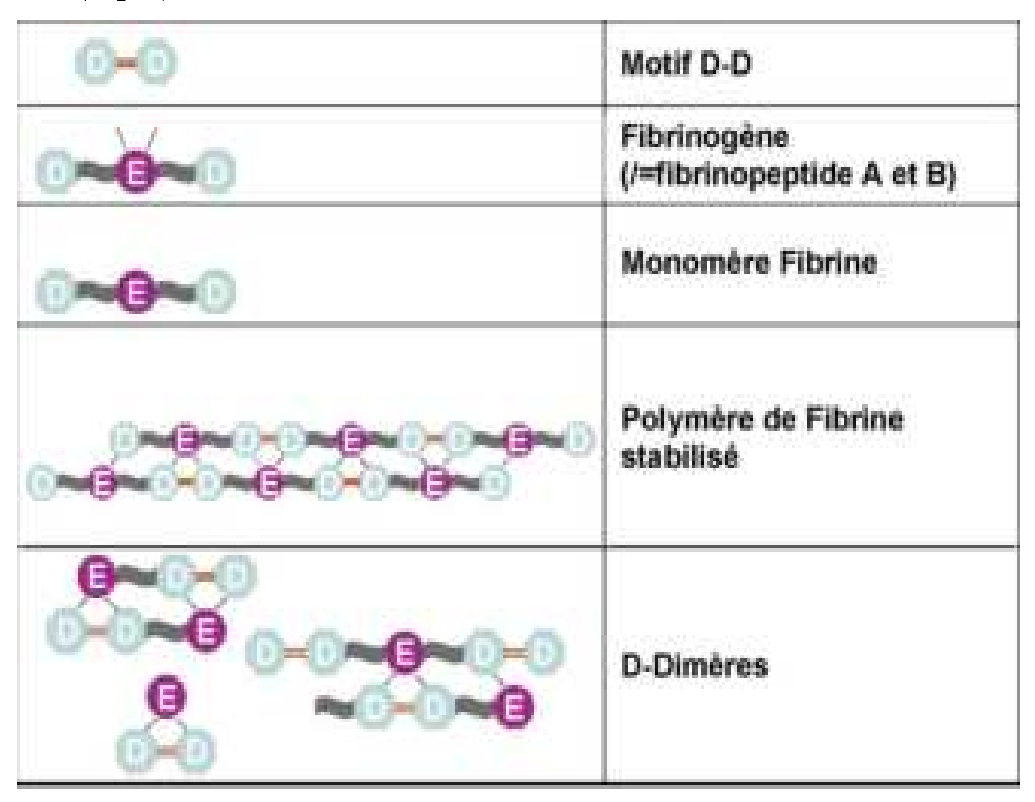


Figure 1 : Combinaison de différentes fragments comprenant le motif D-D (51)

1.2 Biosynthèse :

La présence des D-dimères témoigne d'une activation concomitante des étapes de coagulation et de fibrinolyse. Le caillot hémostatique, résultat de la coagulation, ne joue qu'un rôle temporaire. Lorsque la structure et la fonction tissulaire, endommagée lors d'une brèche vasculaire, sont restaurées le caillot est progressivement éliminé sous l'action du système fibrinolytique. Les D-dimères sont ainsi produits par l'action séquentielle de trois enzymes :

• La thrombine, enzyme clé de la coagulation ;

• Le facteur XIII activé (FXIIIa) sous l'action de la thrombine ;

• La plasmine, enzyme de la fibrinolyse.

Durant l'étape de coagulation, la thrombine transforme le fibrinogène circulant en monomère de fibrine, en libérant à partir de la molécule de fibrinogène quatre fragments:deux fibrinopeptide A et deux fibrinopeptides B (Fig.2).

Les monomères solubles de fibrine forment spontanément un polymère soluble, le protofibrille, en s'associant par liaison hydrogène aux monomères de fibrine voisins via des sites de polymérisation qui ont été démasqués lors de l'action de la thrombine. Le FXIIIa, activé par la thrombine, stabilise les polymères solubles en créant des liaisons covalentes entre les domaines D des monomères de fibrine. Le gel de fibrine est alors stabilisé et devient insoluble. La présence de fibrine déclenche alors un processus de fibrinolyse réactionnelle conduisant à la génération de plasmine, enzyme protéolytique de la fibrinolyse. La plasmine dégrade la fibrine en des dérivés stabilisés de fibrine parmi lesquels on trouve les D-dimères, spécifique de l'action de la plasmine sur la fibrine (Fig.2)

Les D-dimères sont les produits de dégradation hétérogènes de la fibrine mais possédant toujours l'épitope D-D formés par deux monomères de fibrine continus qui ont été liés de manière covalente par le facteur XIIIa. Ils se distinguent ainsi des produits de dégradation de la fibrine et du fibrinogène (PDF) qui peuvent être des produits de dégradation de la fibrine et donc contenir le motif D-D, Mais également des produits issus du fibrinogène sans motif D-D.

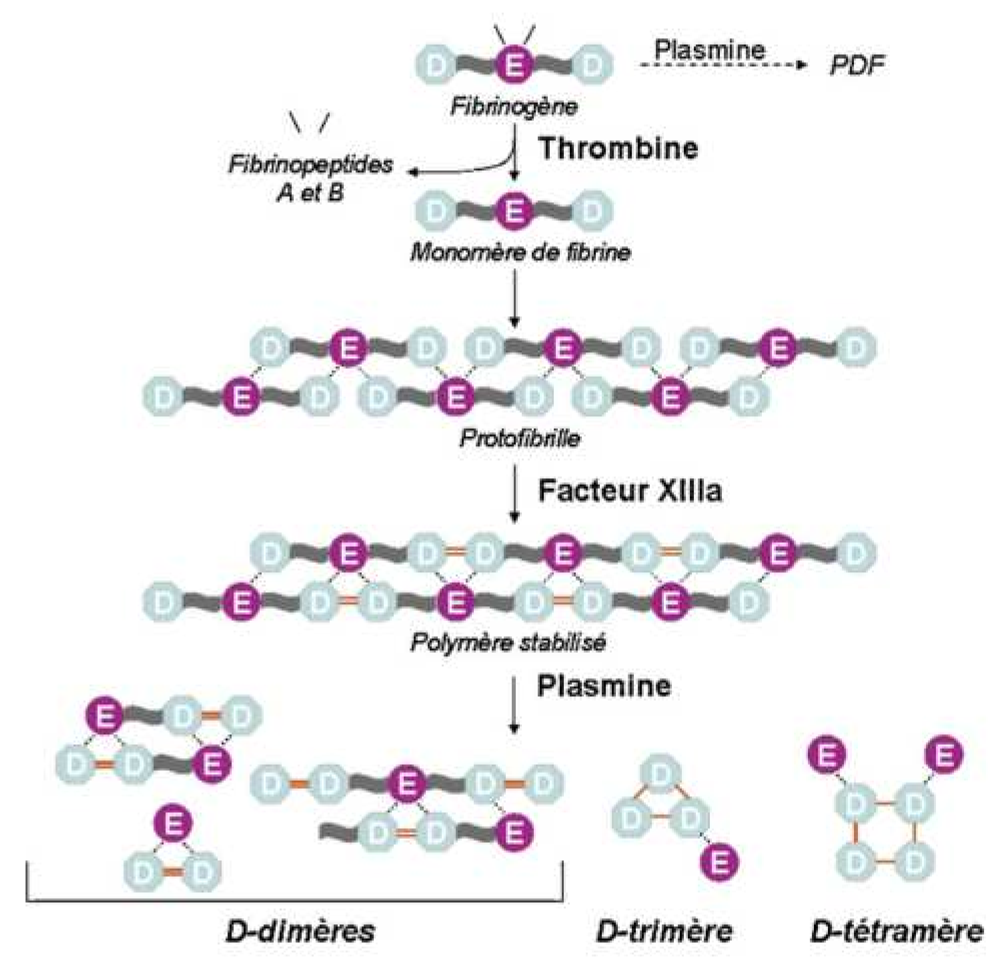


Figure 2 Biosynthèse des D-dimères.

<u>Figure 2 : Biosynthèse des D dimères (51)</u>

1.3 <u>Demi-vie :</u>

La demi-vie est de six à huit heures.

1.4 <u>Élimination :</u>

Ils sont éliminés par le rein et le système réticuloendothélial.

1.5 Variations physiopathologiques :

La non spécificité d'une augmentation des D Dimères est un autre aspect à prendre en compte lors de l'interprétation de leur dosage. En effet, les concentrations plasmatiques des DD s'élèvent dans de nombreuses situations physiologiques, pathologiques et thérapeutiques. Ils augmentent avec l'age(15) et lors des grossesses normales(16) ou les taux dépassent souvent les valeurs usuelles dès le 2eme trimestre. On les retrouve augmentés dans les manifestations infectieuses sévères et dans les réactions inflammatoires d'origine variée.

Une chirurgie récente, un traumatisme ou un effort physique violent et prolongé entraînent également une élévation des taux. De plus, la localisation et l'age du thrombus ont une influence sur le taux des DD. Il serait plus faible dans les TVP distales que proximales et diminue avec le temps. Toutefois, la positivité du test persiste près d'une semaine après l'accident thromboembolique et ce, malgré la mise en place d'un traitement anticoagulant. La présence de varices sans thromboses ne semble pas modifier le test.

De nombreuses pathologies non thromboemboliques (17,18) s'accompagnent d'une activation de la coagulation ou de la fibrinolyse et donc d'une augmentation du taux plasmatique des DD. C'est le cas de nombreux cancers mammaire et ovarien, pulmonaire, pancréatique, colorectaux et dans les leucémies en général. C'est également le cas de la coagulation intra vasculaire disséminée (CIVD) qui se manifeste lors de nombreuses étiologies(19) : septicémies, traumatismes, brûlures, maladies hépatiques sévères, éclampsie…

Une augmentation des DD peut être également prédictive observée dans l'infarctus du myocarde et au cours de la progression de la maladie artérielle périphérique. Lors de certains traitements préventifs ou curatifs, on observe des manifestations de taux des DD dans le sens d'une augmentation ou d'une diminution. Les thrombolytiques majorent le taux des DD alors que les traitements anticoagulants les minorent. Le traitement à l'héparine (Standard ou de bas poids moléculaire) des phlébites ou des embolies pulmonaires fait baisser les DD. Enfin, il semblerait que les oestrogènes à forte dose les augmentent.

Physiologique	Pathologique
Âge Grossesse Période néonatale Période postopératoire Populations noires	Maladie thromboembolique veineuse Ischémie myocardique Artériopathie périphérique Insuffisance cardiaque Fibrillation auriculaire Dissection aortique AVC Traitement thrombolytique Cancer Infections Traumatismes récents Hémorragies Hémolyse CIVD Insuffisance rénale et hépatique Hospitalisation Alitement

Tableau 1 – Principales situations physiopathologiques associées à une augmentation du taux des D-dimères (8)

2. Indications du dosage des D Dimères :

2.1 Les D Dimères et diagnostic des thromboses veineuses et embolies pulmonaires

2.1.1 Outil diagnostique d'exclusion de la MTE :

La prévalence d'EP au sein de collectifs suspect étant en Europe de l'ordre de 20 à 30 %, l'utilisation des D-dimères en 1ere ligne a pour but de permettre l'exclusion de cette hypothèse diagnostique sur la base d'un test négatif, et d'éviter ainsi des examens d'imagerie et leurs effets néfastes potentiels (irradiation, injection de produits de contraste, allergie…). Cette stratégie permet aussi de diminuer le temps de séjour dans nos services d'Urgences débordés, pour autant que le test utilisé ne soit pas trop long. Nous avons vu que les différents tests disponibles n'ont pas tous la même performance. Il est donc important de connaître le test utilisé et ce que l'on peut attendre de lui. De récentes revues de la littérature(20,21), ont

montré que les tests quantitatifs de type ELFA, ELISA classique, ainsi que les test d'agglutination de microparticules de latex de 2eme génération ont d'excellentes sensibilités (95-99 %) et des rapports de vraisemblance (RV) négatifs respectivement de 0,09, 0,11 et 0,13. Ces RV < 0,15 permettent à ces tests D-dimères, en cas de résultat négatif, d'exclure le diagnostic de MTE chez les patients ayant une probabilité clinique pré test non élevée, et ce avec une probabilité post-test (risque de faux négatif pour la MTE) suffisamment basse pour que la stratégie soit considérée sûre (< 3 %). La MTE peut ainsi être exclue chez environ 30 % des patients suspects sans autres examens complémentaires. À l'inverse, les autres tests ne permettent d'exclure la MTE que chez des patients ayant une probabilité clinique pré test faible. Les patients ayant une probabilité clinique élevée ne doivent pas avoir de dosage de D-dimère, et doivent d'emblée être investigué par des examens complémentaires pour diagnostiquer ou exclure la MTE. En effet, la probabilité post-test de MTE, après un résultat D-dimer négatifs dépasse le seuil de sécurité de 3 % chez les patients ayant une forte probabilité clinique pré test (22). D'autre part, par définition, la grande majorité de ces patients auront une MTE et ne seront donc pas concernés par la stratégie d'exclusion basée sur les D-dimères. Pour finir, une notion importante en terme d'utilité clinique du dosage de D-dimère est le nombre de patients qu'il est nécessaire de tester pour éliminer un diagnostic de MTE.

Si l'on considère une prévalence moyenne de 25% dans un collectif de 100 patients suspect d'EP (soit 25 patients ayant une EP et 75 patients n'en ayant pas), postulant que nous utilisons un test D-dimère ayant une haute sensibilité et dont la spécificité est intermédiaire (~ 40 %), le résultat sera donc négatif chez 30 patients. Ainsi, il sera nécessaire de tester en moyenne 3,3 patients (NNT=100/30) pour exclure le diagnostic d'embolie pulmonaire. Ce nombre, et l'utilité du test, est cependant variable en fonction de certaines caractéristiques des patients testés et de la probabilité clinique pré-test. Par exemple, le NNT diminue lorsque l'âge et/ou la probabilité clinique sont faibles et augmente lorsque l'âge et/ou la probabilité clinique sont élevés.(Tableau 3).

Tableau 3 : Situations cliniques associées à une utilité clinique réduite des D-dimères (20)

Situation clinique	NNT
Patients avec probabilité clinique non élevée aux urgences	3
Âge : • < 40 ans • 40-50 ans • 50-60 ans • 60-70 ans • 70-80 ans • > 80 ans	2 2,1 2,3 3,9 8 10-20
Cancer actif	5 à 9
Antécédent de TVP ou d'EP	5-6
Patients hospitalisés	15
Grossesse : • < 30 SA * • 42 SA *	2,6 4

NNT : Nombre de D-dimères à réaliser pour écarter un cas de MTE.
* SA : semaines d'aménorrhée.

2.1.2 Outils diagnostique d'inclusion de la MTE :

Indépendamment de la spécificité biologique des anticorps monoclonaux dirigés contre fragments D-dimères, la multitude des situations cliniques associées à la formation de fibrine suivie de fibrinolyse entraîne une spécificité clinique des tests D-dimères faible de l'ordre de 40 %. Cette spécificité et la valeur prédictive positive augmentent avec le taux des D-dimères (23-24). Cependant, y compris en prenant des valeurs > 7000 µg/l, la limite inférieure de la

valeur prédictive positive est de 80 % ce qui s'avère insuffisant pour retenir le diagnostic de MTE sur ce seul dosage(22).

Cette constatation a une conséquence clinique majeure : un résultat de D-dimère positif (supérieur à la valeur seuil) n'a aucune valeur pour poser le diagnostic de la MTE ni même pour suspecter une MTE (25) chez un patient asymptomatique (22). Il faut réserver le dosage des D-dimères aux seules suspicions clinique de MTE, après une évaluation de la probabilité clinique pré test, dans le cadre d'une démarche d'exclusion. Le dosage non justifié et inapproprié des D-Dimères semble représenter un problème clinique majeur(26). Trois situations sont retrouvées après un dosage réalisé sans réelle suspicion clinique de MTE (dosage systématique « de routine » ou sur la base d'un signe clinique seul) :

i) Le dosage de D-dimères demandé est négatif. Ceci rassure le clinicien mais au prix d'un examen complémentaire et d'une éventuelle prolongation de la durée de prise en charge aux Urgences ;

ii) Le dosage est positif mais ne donne pas suite à une démarche diagnostique et à des investigations. Il n'a eu aucune influence réelle,tout au plus un effet anxiogène pour le médecin qui, voyant ce résultat, décide finalement de ne pas en tenir compte alors même qu'il a pu être demandé à visée de « réassurance médicale ». Ce cas de figure représentait 45 % des DDimères positifs dans l'étude de Durieux et coll. (26) ;

iii) Le résultat positif déclenche cette fois, une stratégie diagnostique et la réalisation d'examens complémentaires non motivés cliniquement. Ceci représentait 18 à 25 % des prescriptions de D dimères dans l'étude de Durieux et coll(26).

La réalisation d'examens complémentaires comme un scanner thoracique expose alors le patient à plusieurs effets néfastes potentiels (irradiation, injection de produit de contraste), à la découverte d'un éventuel d'incidentalome pouvant lui-même entraîner la réalisation d'autres examens (27), sans oublier la prolongation de la durée de séjour dans le Service d'Urgences, l'angoisse suscitée chez le patient et ses proches ainsi que le coût financier engendré. Ainsi, le dosage à titre systématique sans suspicion clinique s'avère inutile et dangereux!

2.2 Les D Dimères et diagnostic de la CIVD :

Le dosage des D-Dimères présente un certain nombre d'intérêts. Le plus important réside dans le fait que les D-Dimères sont des produits de dégradation de la fibrine seule et non du fibrinogène, comme les PDF. De ce fait, des D-Dimères élevés impliquent la mise en jeu d'une fibrinolyse secondaire à une activation de la coagulation, ce qui est très intéressant dans le diagnostic des CIVD, alors que les PDF ne peuvent différencier une augmentation liée à une fibrinolyse secondaire d'une augmentation associée à une fibrinogènolyse primitive.

Ces fibrinogénolyses aiguës primitives sont très rares chez l'homme (27) mais pourraient entraîner des résultats faussement positifs avec le dosage des PDF, par perte de spécificité. Le déclenchement de ces hyperfibrinolyses est lié à des hyperplasminémies, soit par un excès d'activateurs du plasminogène, soit par un défaut d'inhibiteurs de la plasmine. Elles peuvent survenir lors de coup de chaleur, d'hémopathies malignes, de chirurgies du tractus génito-urinaire, de tumeurs de la prostate ou de cirrhose hépatique. Lors d'insuffisance hépatique, ce phénomène s'explique par la diminution de synthèse de certains inhibiteurs de la fibrinolyse ($\alpha 2$ antiplasmine par exemple), la synthèse accrue de plasmine et une clairance réduite en activateurs du plasminogène (28). Chez les patients atteints de cancers, une hyperfibrinolyse due à l'activation du tPA et du système urokinase ou au clivage direct du fibrinogène par des protéases sécrétées par la tumeur, a été relevée. D'autre part, une hyperfibrinogénémie a été notée chez 40 % des patients humains atteints de cancers, et pourrait expliquer ainsi certains résultats positifsde PDF si une hyperfibrinolyse entrait en jeu (29). Dans ces cas d'hyperfibrinolyse primitive, les dosages des D-Dimères restent quant à eux normaux.

3. Le dosage des D Dimères en hémostase :

Le taux de D-dimère dans le sang est normalement inférieur à 0,50 microgrammes par ml, soit 500 microgrammes par litre. Cette valeur est obtenue par la méthode ELISA.
Son dosage est d'une grande sensibilité, pourtant sa spécificité est très faible de telle sorte que seules les valeurs prédictives négatives sont bonnes.
Dans certaines pathologies, le dosage des D-dimère doit être effectué en urgence. En

particulier, il est devenu l'examen de première intention dans la démarche décisionnelle car il présente une excellente sensibilité.

Un test négatif, c'est-à-dire inférieur à 500 microgrammes par litre, permet d'éliminer formellement une embolie pulmonaire et/ou une phlébite. Une étude a montré que la normalité des D-dimères permet d'exclure le diagnostic d'embolie pulmonaire chez environ 1/3 des patients présentant une suspicion quant à cette maladie, sans que d'autres examens soient nécessaires.

3.1 Recommandations pré analytiques :

3.1.1 Prélèvement :

Prélèvement de sang veineux (en général réalisé au pli du coude) sur un tube contenant un anticoagulant, généralement du **citrate liquide**.

Le prélèvement doit être réalisé en évitant la pose trop prolongée d'un garrot. Il doit être analysé rapidement.

L'examen est pratiqué dans du plasma anticoagulé (citrate de sodium 0,106 M ou 0,129 M) ou dans du sang entier héparinisé. Il faut respecter les conditions générales des prises de sang pour déterminer les facteurs de coagulation. Une détermination immédiate n'est pas nécessaire du fait que, in vitro, les d-dimères ne se forment pas très rapidement dans les conditions artificielles du tube à essais [30].

Pour pouvoir interpréter le résultat de D-dimère, l'âge du patient doit être précisé. Il est également nécessaire de bénéficier d'un minimum de renseignements cliniques (grossesse éventuelle, situation post-opératoire), auquel cas le dosage des D-dimères ne présente pas d'intérêt. Dans le cas des patients sous AVK, le taux est abaissé. En conséquence, le dosage des D-Dimères ne doit pas être effectué dans ce contexte sauf suivi chez un même patient.

Le sujet ne doit pas être obligatoirement à jeun : une collation légère sans matière grasse est autorisée ; café, tabac et alcool doivent être évitée dans l'heure qui précède le prélèvement.

3.1.2 Conservation et transport :

Le prélèvement est stable 24h à température ambiante, plusieurs semaines à moins 20°C ; plusieurs mois à 70°C. Le prélèvement est transmis sous forme d'échantillons congelés, idéalement dans les 4h suivant le prélèvement. Il est recommandé de faire une décongélation rapide au Bain marie à 37°C.

3.2 Les méthodes de dosage des D Dimères :

3.2.1 Rappels sur la valeur diagnostique d'un test biologique :

La valeur diagnostique d'un test de laboratoire dépend de différents paramètres qui permettent de dire si ce test est fiable. La sensibilité exprime le pourcentage de résultats anormaux trouvé chez des patients atteints par une affection ; la spécificité exprime le pourcentage de faux positifs, c'est-à-dire des résultats anormaux trouvés chez des patients exempts de maladie ; la valeur prédictive positive (reliée à la spécificité) exprime la valeur diagnostique d'un test positif alors que la valeur prédictive négative (reliée à la sensibilité) indique qu'un résultat normal permet d'exclure le diagnostic avec un risque d'erreur de x %,généralement 5%.

3.2.2 Les techniques de dosage :

Le dosage des D-dimères est réalisé par des méthodes immunologiques, fondées sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux dirigés contre les liaisons moléculaires établies entre deux molécules de fibrine c'est-à-dire le motif D-D. Ces néo-antigènes sont absents de la molécule de fibrinogène native, des produits de dégradation du fibrinogène,ou des monomères soluble de fibrine (Tableau1).Ils présentent donc une bonne spécificité analytique (absence de réaction croisée) mais les D-Dimères étant augmentés dans plusieurs situations cliniques, la spécificité diagnostique reste médiocre. Différentes techniques sont actuellement commercialisées pour la détection et/ou la quantification des D-dimères. Classiquement, Elles peuvent être reparties en trois grandes catégories :

- **les techniques Enzyme Linked Immunosorbent Assay(Elisa), considérées comme la méthode de référence ;**
- **les techniques d'agglutination de nouvelle génération, sensibilisée et le plus souvent automatisables faisant appel à des techniques d'immunoturbidimétrie ou d'immunofluorescence ;**
- **les techniques d'hémagglutination sur sang total qui permettent une détermination rapide mais uniquement qualitative.**

Ces techniques diffèrent par la **spécificité de l'anticorps** utilisé, la **sensibilité analytique**, le **schéma analytique**, les **standards de calibration et l'appareillage utilisé.** En raison de ces différences, chaque dosage possède ses propres caractéristiques techniques, sa propre plage de valeurs normales et nécessite ainsi ses propres études de validation avant de pouvoir être utilisé en pratique clinique.

3.2.2.1 les techniques Enzyme Linked Immunosorbent Assay :

La **technique ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) classique ou microplaque,** même si elle constitue toujours la technique de référence, les techniques Elisa conventionnelles présentent peu d'intérêt en routine, compte tenu de leurs contraintes de réalisation techniques (temps de réalisation peu compatible avec l'urgence, absence de dosage unitaire, coût. . .). Il existe aujourd'hui des techniques Elisa simplifiées, rapides et automatisées.

ELISA est une méthode quantitative qui a l'avantage d'avoir une excellente sensibilité et est considérée comme le gold standard. Cependant, cette technique est complexe et demande un temps de réalisation prolongé (2-4 h). Elle ne permet le dosage qu'en lots d'échantillons. L'ensemble de ces conditions en limite son utilité clinique.

La **technique ELISA rapide ou ELFA (enzyme linked immunofluorescent assay),** Le dosage est réalisé grâce à des barrettes et des cônes (où est fixé l'anticorps de capture) unitaires et un système de lecture en fluorescence. Un résultat quantitatif (courbe d'étalonnage

du lot stockée dans le logiciel, allant de 0 à 10 000 ng/mL D-dimères) est obtenu en 20 minutes ; le seuil d'exclusion de la MTEV est fixé à 500 ng/mL**.** est une technique rapide (~35 min) entièrement automatisée et adaptée au dosage unitaire. Elle est observateur indépendant et présente une excellente sensibilité.

Les **tests ELISA membranaires (**immunodiffusion/immunofiltration**),** Elles sont moins répandues et reposent sur l'utilisation de systèmes d'immunofiltration quantitatifs ou semi quantitatifs,où l'anticorps est fixé sur une membrane filtrante. L'échantillon de plasma est déposé sur la membrane de la cassette-test. Quand l'échantillon est absorbé dans la cassette-test, les molécules de D-dimère sont piégées sur une membrane portant des anticorps monoclonaux anti-D-dimère. Le conjugué, déposé ensuite, contient des anticorps monoclonaux anti-D-dimère marqués de fines particules d'or. Le D dimère fixé sur la membrane se lie aux anticorps marqués par une réaction de type « sandwich ».L'excès de conjugué est éliminé de la surface de la membrane par l'ajout d'une goutte de solution de rinçage. En présence de concentrations de D-dimère supérieures à100 ng.mL−1dans l'échantillon, la membrane apparaît rouge pourpre et l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de D-dimère. Cette intensité est évaluée par réflectométrie ou par Lecture visuelle (résultat semi quantitatif). Ils utilisent un anticorps monoclonal marqué produisant un changement de couleur en présence de taux élevés de D-dimères. L'examen est rapide (~20 min.) et fournit un résultat semi quantitatif avec une sensibilité intermédiaire.

3.2.2.2 Les techniques d'agglutinations de première et deuxième générations :

L'agglutination de microparticules de latex, 1re génération, est une méthode semi-quantitative basée sur l'agglutination visible de particules de latex couvertes des anticorps monoclonaux. Rapide et facile à réaliser, elle a une sensibilité médiocre et n'est pas utilisée dans le diagnostic d'exclusion de la MTE. Elle a inversement une bonne spécificité permettant son utilisation dans le diagnostic de la CIVD.

L'agglutination de microparticules de latex, de 2eme génération, est une méthode identique à la précédente, mais fournissant un résultat quantitatif grâce à un analyseur immunoturbidimétrique. Elle est observateur indépendant et présente une excellente sensibilité. De nombreux tests utilisant cette technique sont disponibles (tableau 3). À noter cependant qu'ils n'ont pas tous été évalués avec la même rigueur, le plus étudié étant le test Tinaquant®.

3.2.2.3 les techniques d'hémagglutination sur sang total :

Les **tests par hémagglutination sur sang complet**, basés sur une méthode semblable à celle de l'agglutination de microparticules de 1re génération, les hématies étant utilisées à la place des microbilles de latex. Elle fournit un résultat qualitatif par la présence ou absence d'une hémagglutination visible. Elle est observateur dépendant et présente une sensibilité intermédiaire. Elle présente l'avantage d'être très rapide, et peut se faire au lit du malade en quelques minutes. Certaines techniques peuvent aussi être réalisées, soit sur sang total, soit sur plasma et plusieurs se développent sur des appareils de biologie délocalisée mobiles utilisables au lit du malade ou dans le camion SMUR,semi quantitative par analyse immunochromatographie comme Simplify D dimer® (AGEN Biomedical, Brisbane, Australia) ou quantitative par immunofluorescence comme BIOSITE Triage D-dimères®. Leur avantage majeur est de fournir un résultat en 2-15 minutes, permettant ainsi aux médecins de 1re ligne (médecins de ville, urgentistes) d'obtenir un résultat rapide afin de décider si des examens complémentaires sont nécessaires. Une métaanalyse récente des ces test rapides (31), montre que la sensibilité générale de ces test est intermédiaire. Si les tests quantitatifs semblent présenter de meilleures performances, ils n'ont été que très peu évalués dans la suspicion d'EP.

Cette hétérogénéité des différentes techniques se traduit aussi dans les seuils de positivité, ainsi que dans les unités des résultats (unité DD ou FEU (fibrinogène équivalent unité)). Toutes ces différences ont pour conséquences de rendre la comparaison directe, entre 2 tests D-dimères différents, impossible. Une standardisation des tests serait souhaitable, mais elle

n’est possible que si l’objet de la mesure est une entité clairement définie, ce qui n’est pas le cas pour les D Dimères qui sont un mélange de produit de dégradation de différentes tailles.
Certains auteurs ont suggéré un modèle mathématique permettant de convertir les valeurs D-dimères de différents tests en une échelle commune, mais aucune proposition définitive n’a pu aboutir (32).
Par ailleurs, il est important de rappeler que seuls des tests D-dimères ayant été correctement validés dans des grands essais cliniques (ou comparés sur des échantillons de plasma congelés de grands essais cliniques) peuvent être utilisés dans la pratique clinique (R). Actuellement, il s’agit essentiellement des techniques Vidas®, Tinaquant® et SimpliRED®.

Tableau 2 – Rapports de vraisemblance des tests D-dimères (9, 10)

Méthode diagnostique	Évaluation	Sensibilité	Spécificité	RV négatif
ELISA classique	Quantitative	Élevée	Faible	0,08-0,11
Latex 1re génération	Semi-quantitative	Intermédiaire	Intermédiaire	0,29-0.36
Latex 2nde génération	Quantitative	Élevée	Intermédiaire	0,13
ELISA membranaire	Quantitative	Élevée - Intermédiaire	Faible - Intermédiaire	0,18
Hémagglutination	Qualitative	Intermédiaire	Intermédiaire	0,27
ELFA	Quantitative	Élevée	Faible	0,09

ELISA: enzyme linked immunosorbent assay
ELFA: enzyme linked immunofluorescent assay
RV: rapport de vraisemblance

3.2.3 Les limites de dosage des D Dimères :

Une des limites déjà mentionnées est le délai qui s'écoule entre l'événement thromboembolique et la mesure des D-dimères. La principale limite de ces tests est leur défaut de spécificité, aussi bien dans le diagnostic d'une CIVD que dans celui d'une maladie thromboembolique. En effet, en médecine humaine, une élévation des taux de D-Dimères a été relevée dans de nombreuses conditions, notamment lors de chirurgie récente, de grossesse, de cancer et dans un grand nombre d'états inflammatoires généralisés (33). Une étude prospective récente a montré également que des patients traumatisés gardaient des valeurs élevées pendant plus de 14 jours après leur hospitalisation, rendant inutile tout test d'exclusion d'embolie pulmonaire ou de thrombose veineuse par les D-Dimères (34). Des valeurs de D-Dimères anormalement élevées chez des patients sains ont également été rapportées, à cause d'interférences pouvant être dues à des réactions antigènes/anticorps, à des anticorps anti-animaux (utilisés dans les réactions immunologiques), à l'hémolyse ou à des médicaments : ceci rappelle au clinicien de toujours replacer un test de laboratoire dans un contexte clinique, surtout quand on utilise des tests faisant appel à des réactions immunes. Dans ces cas de valeurs anormalement élevées chez des sujets sains, des tests utilisant une autre méthode de dosage immunologique, ont révélé des valeurs dans les intervalles de référence (35).

D'autre part, selon la méthode de dosage, les valeurs diagnostiques d'un test peuvent différer : pour les D-Dimères, l'ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) est la méthode de référence présentant la meilleure sensibilité.

Des Méthodes immunoturbidimétriques ont montré des sensibilités comparables, alors que les méthodes au latex ont démontré des performances insuffisantes avec des sensibilités de 80 % seulement(36).

On comprend dès lors que la connaissance des performances d'un test est très importante et permet de savoir quel crédit accorder à un résultat de laboratoire.

3.2.4 Les performances des tests :

Comme indiqué dans les précédents paragraphes, seuls les résultats obtenus par ELISA peuvent actuellement contribuer à exclure la présence d'une maladie thromboembolique. Cela comporte une limitation majeure dans la mesure où l'ELISA en microplaque ne convient pas aux dosages isolés, ce qui a empêché l'emploi des D-dimères à une grande échelle. Idéalement, il faudrait disposer d'une méthode de mesure unitaire, rapide (résultat dans l'heure), non observateur dépendant et aussi performant en termes de sensibilité que les ELISA actuels. Les fabricants de réactifs ont relevé le défi et l'on dispose maintenant de systèmes performants qui semblent répondre à ces critères.
Un test au latex sur sang total a montré des résultats intéressants. Chez 214 patients avec suspicion de thrombose veineuse profonde (pléthysmographie par impédance et phlébographie), la sensibilité était de 93 % pour les thromboses veineuses profondes proximales et de 70 % pour les distales. La combinaison d'une pléthysmographie normale et d'un test D-dimères négatif avait une valeur prédictive négative de 97 % [37]. Dans un collectif de 86 patients avec suspicion d'embolie pulmonaire la sensibilité était de 94 %, la spécificité de 66 % et la valeur prédictive négative de 98 % [38]. Dans une étude très récente (234 patients suspects de thrombose veineuse profonde ou embolie pulmonaire), la sensibilité de ce test est de 100 %, sa spécificité de 58 % et sa valeur prédictive négative de 100 %. Le test a permis de poser le diagnostic d'exclusion dans 40 % des cas [39]. Si ces résultats sont confirmés, ce test serait une excellente réponse aux problèmes actuels. Cependant, il faut garder à l'esprit qu'il s'agit d'une lecture visuelle et il est important d'étudier la variabilité interindividuelle de la lecture.

Deux systèmes d'immunofiltration ont été commercialisés. Le premier, à lecture visuelle, est semi quantitatif. Dans un collectif de 301 patients suspects d'embolie pulmonaire, il avait une sensibilité de 97 %, une spécificité de 44 % et une valeur prédictive négative de 97 % [40]. Nous avons constaté une certaine variation interindividuelle à la lecture (trois lecteurs), dont les conditions doivent être bien standardisées. Un test basé sur le même principe, qui peut être rendu quantitatif par une lecture en réflectométrie, montre également des résultats

intéressants. Dans un collectif de 92 patients avec suspicion de thrombose veineuse profonde, sa sensibilité était de 95 %, sa valeur prédictive négative de 87 % et sa spécificité de 25 % [41]. D'autres études sont attendues pour mieux apprécier ses performances.
Un ELISA en cône, unitaire, automatique et quantitatif (courbe d'étalonnage du lot stockée dans le logiciel, allant de 0 à 1 000 ng/ml D-dimères) est disponible. Il demande un appareil assez sophistiqué mais très simple d'emploi. Le résultat est disponible en 35 minutes. Sur un collectif de 195 patients consécutifs avec suspicion d'embolie pulmonaire, sa sensibilité était de 100 %, sa valeur prédictive négative de 100 % pour une spécificité de 38 % [42].
L'inconvénient majeur est l'investissement que représente l'achat de l'immunoanalyseur.
Enfin des latex quantitatifs arrivent actuellement sur le marché et il est trop tôt pour avoir une idée de leurs performances.

Partie 2 : les méthodes de dosage des D Dimères au Laboratoire d’Hématologie

1.Introduction :

Le but de notre sujet de thèse est de montrer les différentes techniques de dosage des D dimères.

alors, de nombreuses techniques de dosage sont actuellement disponibles sur le marché. Certaines techniques fournissent un résultat qualitatif, d’autres un résultat semi quantitatif, d’autres, enfin, un résultat quantitatif.

Le problème majeur est l’absence de standardisation des techniques. Celles-ci peuvent différer par la méthode mise en œuvre(agglutinationde particules de nature variée, ELISA), le type d’anticorps utilisé (monoclonal ou polyclonal) ou les épitopes reconnus par ces anticorps. De très nombreuses études ont démontré que le dosage des D-dimères, des produits de dégradation spécifiques de la fibrine, pouvait être un paramètre très performant pour exclure le diagnostic d'embolie pulmonaire, en cas de taux inférieur à une valeur seuil. Si la technique de référence dans cette indication reste la méthode Elisa, elle est peu utilisée en pratique courante, compte tenu de ses contraintes de réalisation. Des méthodes plus rapides et aussi performantes fondées sur différents principes (dérivés de l'Elisa ou agglutination de microparticules de latex dans la plupart des cas), ont été développées, qui sont plus adaptées au dosage unitaire et à l'urgence. Certaines ont été validées par de nombreuses études cliniques, avec un seuil d'exclusion pouvant être variable selon les trousses, mais fixé dans la plupart des cas à 500 ng/mL. La détermination de cette valeur seuil (cut-off) est fondamentale, et celle-ci paraît être différente en fonction des trousses diagnostiques, voire en fonction de l'environnement technique de chaque laboratoire. Elles ont une très bonne sensibilité (proche de 100 %), ainsi qu'une excellente valeur prédictive négative (supérieure à 98 %). Le dosage des D-dimères s'inscrit donc aujourd'hui dans une stratégie diagnostique multidisciplinaire de l'embolie pulmonaire, en amont des examens d'imagerie (sauf en cas d'une forte probabilité clinique), permettant ainsi d'en limiter la prescription. Enfin, il est à noter que le développement et la commercialisation de nombreuses trousses de dosage a permis de mettre en évidence un certain manque de standardisation, et de stigmatiser la

nécessité d'études clinico-biologiques pour valider les performances de chaque test et pour définir la valeur seuil au-dessous de laquelle il est possible d'exclure un diagnostic d'embolie pulmonaire.

Matériels et Méthodes :

1. Les Méthodes manuelles :

1.1 Hémagglutination sur sang total : Test SimpliRed D dimer

1.1.1 Indication :

Le test SimpliRED® D-dimer est un test **qualitatif rapide** de dépistage des produits de dégradation de la fibrine réticulée contenant un site de D-Dimères réticulés dans le sang total humain. Ce test peut être utilisé par des professionnels de la santé dans tout établissement médical.
Au cours de la coagulation sanguine, l'activation de la thrombine entraîne une conversion du fibrinogène en fibrine. La polymérisation des monomères de fibrine donne naissance à un gel soluble constitué de molécules de fibrine non réticulées. Dans un deuxième temps, ce gel devient un caillot fibrineux insoluble lorsque l'activation du facteur XIII par la thrombine induit une réticulation du réseau de fibrine. La formation d'un caillot fibrineux déclenche la synthèse de la plasmine, qui est la principale enzyme thrombolytique. L'activité fibrinolytique de la plasmine s'exerce sur le fibrinogène et la fibrine et donne naissance à des produits de dégradation, mais seuls les produits provenant de la fibrine réticulée contiennent des D-Dimères (43). Ces produits de dégradation de la fibrine réticulée (XL-FDP) sont donc des marqueurs spécifiques de la fibrinolyse.

1.1.2 Principe de test :

SimpliRED® D-dimer est un test **d'agglutination des globules rouges autologues**. L'agent actif est un conjugué chimique d'un anticorps monoclonal spécifique des D-Dimères (44) lié à un anticorps monoclonal qui se fixe à la surface des globules rouges. Les XL-FDP présents dans un échantillon sanguin se lient au conjugué à la surface des globules rouges, provoquant

une réticulation entre les groupes conjugués des cellules adjacentes, qui se traduit par une agglutination visible. En l'absence de D-Dimères, le conjugué fixé aux globules rouges ne provoque pas d'agglutination (45).

1.1.3 Matériels ;

1.1.3.1 Réactifs :

- **Composition :**

1. SimpliRED® D-dimer, **réactif d'examen** : solution contenant un conjugué d'anticorps anti-XL-FDP et de globules rouges, stabilisateurs, 5,0 mg/ml de BSA et 0,05 % d'azide de sodium comme agent de conservation.
2. SimpliRED® D-dimer, **témoin positif** : solution contenant un fragment de D-Dimères humains purifiés, stabilisateurs, 5,0 mg/ml de BSA et 0,05 % d'azide de sodium comme agent de conservation.
3. SimpliRED® D-dimer, **témoin négatif** : sérum physiologique à 0,9 % contenant 0,05 % d'azide de sodium comme agent de conservation.

- **Mises en garde et précautions d'emploi :**

• Réservé au diagnostic médical in vitro.
• Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (0,05 %). Ne pas ingérer et éviter le contact avec la peau ou les muqueuses. En présence du plomb ou du cuivre qui entre dans la composition des tuyaux d'adduction et d'évacuation d'eau, l'azide de sodium peut donner naissance à des acides métalliques extrêmement explosifs. En cas d'évacuation de la solution dans l'évier, rincer abondamment avec de l'eau pour éviter l'accumulation d'azide.
• SimpliRED® D-dimer, témoin positif, contient des composants d'origine humaine. Chaque don individuel de sang destiné à la production de ce réactif fait l'objet d'un dépistage de l'Ag HBs et des anticorps anti-HCV, anti-VIH1 et anti-VIH2. Seuls les dons générant des résultats négatifs sont utilisés. Comme l'absence complète d'agents infectieux ne peut jamais être

garantie, le réactif doit être traité comme potentiellement infectieux et manipulé avec prudence en respectant les précautions d'usage pour les matériaux biologiques dangereux.

- **<u>Préparation :</u>**

Les réactifs n'ont pas besoin de préparation ; ils sont prêts à l'emploi après avoir été ramenés à température ambiante pendant au moins 10 minutes.

- **<u>Conservation et stabilité :</u>**

Conserver les réactifs à une température entre 2 °C et 8 °C. Ne pas congeler.
Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption figurant sur l'étiquette du conditionnement.

- **<u>Indication de détérioration du réactif :</u>**

Un témoin positif est inclus dans la trousse. L'échec de ce témoin à provoquer l'agglutination témoigne d'une perte d'activité des réactifs de la trousse.

<u>1.1.3.2 Matériels utilisés :</u>

- **<u>Matériel fourni</u>** :

Réactif d'examen 1 x 1,0 ml (bouchon rouge) q.s. pour 40 examens
Témoin négatif 1 x 1,0 ml (bouchon noir) q.s. pour 40 examens
Témoin positif 1 x 0,6 ml (bouchon jaune) q.s. pour 40 examens
Plateaux d'agglutination x 40
Deux puits chacun, pour la réaction d'agglutination
Mélangeurs x 40
Mélangeurs en plastique blanc pour mélanger le réactif et l'échantillon
Mode d'emploi

- **Matériel nécessaire mais non fourni** :

Chronomètre permettant de mesurer le temps de réaction qui est de 2 minutes
Pipettes et embouts permettant de délivrer un volume de 10 µl
Gants jetables

1.1.4 Méthode :

1.1.4.1 Recueil et préparation des échantillons :

Le test SimpliRED® D-dimer est conçu pour être utilisé avec du sang total capillaire ou veineux prélevé de manière extemporanée.

Le sang veineux anticoagulé avec du citrate de sodium, de l'héparine ou de l'EDTA est acceptable. Le sang anticoagulé doit être examiné dans un délai de 4 heures après le prélèvement en cas de conservation à température ambiante (20-23,5 °C) ou conservé au réfrigérateur pendant 24 heures avant l'examen. Le sang non anticoagulé doit être utilisé immédiatement après le prélèvement.

Ne pas utiliser les échantillons présentant des caillots.

1.1.4.2 Procédure d'exécution de l'examen :

• Mélanger les réactifs avant l'utilisation mais ne pas agiter.

• Avant chaque utilisation, l'embout du flacon doit être essuyé à l'aide d'un mouchoir en papier.

• Tenir le flacon verticalement pour déposer les gouttes de réactif.

• Déposer les gouttes de réactif au centre des puits et éviter tout contact entre les embouts des pipettes et l'échantillon sanguin ou tout autre liquide.

• Ne pas utiliser les gouttes qui contiennent manifestement trop ou trop peu de réactif.

• Ne pas toucher la face interne des puits de réaction. Les empreintes digitales peuvent générer une diffusion inégale.

• Faire attention à ne pas intervertir les bouchons des flacons. Les étiquettes et les bouchons des flacons ont des couleurs assorties afin de faciliter leur identification.
• Traiter tous les échantillons médicaux comme potentiellement infectieux et respecter les précautions de manipulation préconisées.

1.1.4.3 Méthode d'examen :

1. Amener les réactifs à température ambiante.
2. Mélanger les échantillons de sang total délicatement mais soigneusement et NE PAS LAISSER LES CELLULES SEDIMENTER.
3. Pour chaque échantillon à examiner, déposer avec la pipette 10 µl de sang total dans chacun des puits de réaction étiquetés " – " (puits du témoin négatif) et "EXAMEN" (puits d'examen) sur un plateau d'agglutination. Utiliser un nouvel embout pour chaque échantillon. Eliminer les embouts après utilisation dans une poche pour matériaux biologiques dangereux.
4. Ajouter une goutte de témoin négatif (bouchon noir) dans le puits du témoin négatif.
5. Ajouter une goutte de réactif d'examen (bouchon rouge) dans le puits d'examen.
6. A l'aide d'un mélangeur en plastique (fourni), mélanger soigneusement le contenu du puits de témoin négatif, puis celui du puits d'examen pendant 3 à 5 secondes environ, afin de bien mélanger et répartir le réactif sur toute la surface des puits. Eliminer le mélangeur après utilisation dans une poche pour matériaux biologiques dangereux.
7. Mélanger par balancement délicat du plateau d'agglutination pendant 2 minutes.
8. Examiner chaque puits à la recherche de la présence d'une agglutination et enregistrer les résultats.
9. Le résultat est positif si le puits d'examen montre une agglutination par rapport au puits du témoin négatif. Si le témoin négatif provoque une agglutination, l'examen n'est pas valide.
10. Si le résultat de l'examen est négatif, ajouter une goutte de témoin positif (bouchon jaune) dans le puits d'examen et agiter la lame par balancement. Une réaction d'agglutination visible doit être apparente dans un délai de 15 secondes. L'absence d'agglutination invalide l'examen.

11. Eliminer le plateau d'agglutination après utilisation dans un conteneur pour matériaux biologiques dangereux - ne pas réutiliser.

<u>Méthode Contrôle Qualité - témoin positif :</u>

Pour réaliser un test de contrôle qualité à l'aide du SimpliRED® D-dimer, témoin positif, respecter les instructions de la méthode d'examen, étapes 1 à 9 (incluses), mais remplacer l'étape 3 de la méthode d'examen par la procédure suivante.

a. **Utiliser un échantillon de sang total ayant donné un résultat négatif au test de dépistage des D-Dimères.**

b. Déposer avec la pipette 10 µl de sang total négatif pour les D-Dimères dans le puits de témoin négatif et dans le puits d'examen d'un plateau d'agglutination non utilisé.

c. Ajouter une goutte de SimpliRED® D-dimer, témoin positif (bouchon jaune), dans le puits d'examen uniquement.

1.1.5 Contrôle Qualité :

Un témoin négatif et un témoin positif sont fournis dans la trousse. Le témoin négatif doit être utilisé pour vérifier les caractéristiques fonctionnelles de chaque échantillon examiné et doit être utilisé comme comparateur pour l'absence d'agglutination. En cas d'agglutination avec le témoin négatif, le résultat n'est pas valide. Au moins un test de contrôle qualité utilisant la trousse de témoin positif (voir la méthode de CQ - témoin positif) doit être réalisé sur chaque série d'échantillons médicaux. Le réactif de témoin positif doit également être utilisé pour confirmer la validité d'un résultat de test SimpliRED® D-dimer négatif (voir l'étape 10, Méthode d'examen). L'échec d'un témoin positif à produire une agglutination témoigne de la perte de réactivité dans les réactifs de la trousse.

Les échantillons témoins doivent également être examinés avant l'utilisation d'un nouveau lot de SimpliRED® D-dimer et à chaque fois qu'il existe un doute concernant la validité des résultats. Par ailleurs, un test de contrôle qualité utilisant des témoins positifs et négatifs doit être mis en œuvre aux intervalles éventuellement requis par les réglementations locales, étatiques et/ou fédérales ou par les programmes d'homologation.

1.1.6 Limites de l’examen :

La procédure d’examen SimpliRED® D-dimer et l’interprétation des résultats doivent être étroitement suivis. A défaut, le résultat de l’examen ne sera pas valide. Le diagnostic clinique ne doit pas reposer uniquement sur les résultats du test SimpliRED® D-dimer. Le diagnostic sera défini en fonction des signes cliniques et des données des autres examens complémentaires.

Les valeurs normales pour l’hématocrite sont de 0,45 ± 0,05 (l/l) pour les hommes et de 0,41 ± 0,05 (l/l) pour les femmes (46). Les valeurs de l’hématocrite en dehors de l’intervalle 0,40 - 0,50 (l/l) n’ont pas été évaluées et pourraient affecter les caractéristiques fonctionnelles du test SimpliRED® D-dimer.

La présence d’auto anticorps agissant à froid (agglutinines froides) dans des échantillons médicaux peut provoquer l’agglutination des propres globules rouges du patient (47). Dans le test d’agglutination sur sang total SimpliRED® D-dimer, cette présence pourrait provoquer l’agglutination du témoin négatif, ce qui rendrait le résultat du test non valide.

1.2 latex semi quantitatif : Test de Helena D-dimer

1.2.1 Indication :

Helena D-dimer est un essai d'agglutination au latex pour analyse semi quantitative des D-dimères de fibrine.

1.2.2 Principe de test :

Le test Helena est un test d’agglutination rapide utilisant des billes de latex couplées à un anticorps monoclonal hautement spécifique des D-dimères. Les XL-FDP présents dans un échantillon plasmatique se lient aux billes de latex recouvertes d’anticorps, ce qui se traduit par une agglutination visible lorsque la concentration des D-dimères est supérieure au seuil de détection de la méthode de dosage.

1.2.3 Matériels :

1.2.3.1 Réactifs :

- **Description des réactifs :**

1. Méthode de test Helena D-dimer au latex : 1 fiole contenant 1,7 ml de suspension de particules de latex. Les particules sont enduites d'anticorps monoclonaux.
2. Solution saline: 2 fioles contenant chacune 8 ml de tampon salin de pH 7,3. Contient 0,2 g/l d'azide de sodium.
3. Plasma de contrôle positif: 1 fiole contenant 1,0 ml de plasma humain lyophilisé enrichi en D-dimères.
4. Plasma de contrôle négatif: 1 fiole contenant 1,0 ml de plasma humain lyophilisé.

- **Préparation du réactif :**

1. Attendez que toutes les fioles se réchauffent à température ambiante au moins 10 minutes avant de les utiliser.
2. Ajoutez 1,0 ml (1000 µl) de solution saline à chacune des fioles de plasma de contrôle positif et négatif. Le plasma contrôle peut être conservé à 2...6°C pendant un mois. Voir XIII. Remarques point 3.
3. Agitez le latex en renversant plusieurs fois la fiole pendant 5 secondes immédiatement avant utilisation.

Si des amas de latex s'amoncellent dans le cou du flacon ou sont présents dans la suspension de latex, vortexer le flacon pendant 10 secondes pour s'assurer que le dépôt est remis en suspension.

- **Mise en garde et précautions d'emploi :**

AZIDE DE SODIUM. La solution saline et le réactif au latex contiennent tous deux de l'azide de sodium qui peut réagir au contact avec le plomb et le cuivre des tuyauteries d'évacuation en

formant des azotures hautement explosifs. En cas d'évacuation dans un évier, rincez à grande eau pour prévenir la formation de dépôts d'azide.
L'analyse doit être menée en association avec les observations cliniques et d'autres analyses de laboratoire.

- **<u>Conservation et Stabilité :</u>**

Les réactifs doivent être conservés à 2...8°C et utilisés avant la date de péremption mentionnée sur la boîte. Le plasma témoin reconstitué se conserve un mois à 2...6°C.

<u>1.2.3.2 Matériels utilisés :</u>

- **<u>Matériel fourni :</u>**
    - 1 x Helena D-dimer au latex
    - 2 x solution saline
    - 1 x plasma de contrôle positif
    - 1 x plasma de contrôle négatif
    - 50 bâtonnets pour mélanger
    - 16 cartes d'essai par lot de 6 échantillons

    - **<u>Matériaux requis mais non fournis :</u>**
- Pipettes à 20, 100 et 1000 µl
- Pointes de pipette
- Tubes de dosage de 3 ml
- Minuterie

1.2.4 Méthode :

1.2.4.1 Prélèvement des échantillons :

L'utilisation du citrate pour le plasma anticoagulé est recommandée. Rassemblez les échantillons en neuf mesures de sang et une mesure de solution tampon de citrate de sodium à 3,2 % (0,105 M).

Centrifugez à 3000 x g pendant 10 minutes. Les échantillons de plasma sous citrate se conservent 2heures à température ambiante et 18 heures à 2...8°C. Une congélation unique n'affectera pas la réaction à l'analyse. Vous pouvez vous référer au NCCLS H21-A2 pour des instructions spécifiques relatives au prélèvement des échantillons.

1.2.4.2 Procédure d'exécution de l'examen :

Méthode qualitative :

1. Placez 20 µl d'échantillon et de plasmas contrôles positifs et négatifs en cercles sur une carte d'essai.
2. Placez 20 µl de latex en suspension à proximité de chacun des cercles formés.
3. Mélangez rapidement l'échantillon et le latex avec un bâtonnet propre pour chaque échantillon. Mettez la minuterie en marche.
4. Agitez doucement la carte d'essai et mesurez l'agglutination au bout de 180-200 secondes.

Comparez les résultats positifs (+) et négatifs (-) avec les contrôles. Le contrôle positif est d'ordre purement qualitatif et une dilution supplémentaire est donc inutile. En l'absence d'agglutination du latex, l'échantillon est jugé normal et n'a donc pas besoin d'être testé de nouveau.

D. Méthode semi quantitative effectuée sur les seuls échantillons au résultat positif.

1. Utilisez 100 µl d'échantillon pour effectuer une dilution en série de 1:2, 1:4 et 1:8 avec 100 µl de solution saline dans de petits tubes de dosage.
2. Marquez la position des dilutions sur la carte d'essai et mélangez avec le latex en suspension comme indiqué au point VII. C. La concentration en D-dimères pourra être établie par référence au tableau ci-dessous :

L'agglutination intervient dans les 180-200 secondes pour les échantillons contenant plus de 250 ng/ml de D-dimères. Une dilution du plasma en série permet d'obtenir des résultats semi quantitatifs.

Taux de D Dimères en (ng/ml) :

(ng / ml)	Nom dilué	1 :2	1 :4	1 :8
< 250	-	-	-	-
250-500	+	-	-	-
500-1000	+	+	-	-
1000-2000	+	+	+	-
>2000	+	+	+	+

L'agglutination peut être plus prononcée et plus rapide pour des concentrations de D-dimères assez élevées. Si vous souhaitez exprimer les résultats en unités équivalent fibrinogène (UEF), multipliez par 2 les taux de D-dimères du tableau ci-dessus : par exemple, <250 ng/ml devient <500 UEF. Différents rapports ont montré que certaines analyses commerciales au latex n'ont pas la sensibilité alléguée par rapport à la technique ELISA commercialisée.

1.2.5 Contrôle de qualité :

Les contrôles positifs et négatifs fournis doivent être utilisés pour contrôle de la qualité de chaque trousse. Il est recommandé de tester les contrôles positifs et négatifs à chaque nouvelle utilisation de la trousse. Si l'un des contrôles (positif ou négatif) ne fournit pas la réponse attendue, les résultats obtenus pour ce test ne doivent pas être exploités et la trousse utilisée doit être délaissée ou renvoyée à Helena.

1.2.6 Limites de l'examen :

1. Un test négatif en D-dimères n'élimine pas totalement l'hypothèse de thrombose. La trousse d'analyse Helena D-dimer 5a donné une valeur prédictive négative de 94 % pour des patients avec suspicion de thrombose veineuse profonde. La détection de taux élevés de D dimères doit donc être confirmée par d'autres données cliniques pour arriver à un diagnostic.
2. Un phénomène d'agglutination des échantillons contenant des taux normaux de D-dimères peut occasionnellement être observé en raison de la non spécificité de la réaction.
3. Un petit nombre d'échantillons peuvent, après mélange avec le latex, présenter des flocons blancs qui ne doivent toutefois pas être confondus avec un phénomène d'agglutination.

2. Les méthodes automatisées :

2.1 ELISA membranaires : Test de Triage D Dimer

2.1.1 Indication :

Le test Triage® D-Dimer est un dosage immunologique par détection de fluorescence destiné à être utilisé avec le Triage Meter pour la détermination quantitative des produits de dégradation de la fibrine réticulée contenant du D-Dimère dans des échantillons de sang total et de plasma recueillis sur EDTA. Le test permet d'examiner et d'évaluer les patients soupçonnés d'être atteints de coagulation intra vasculaire disséminée ou d'événements thromboemboliques dont une embolie pulmonaire.

Au cours du processus de coagulation, la thrombine transforme le fibrinogène en fibrine soluble par la dégradation protéolytique des fibrinopeptides A et B. La fibrine soluble se polymérise spontanément et les régions D établissent des liaisons covalentes croisées par un processus qui est catalysé par le facteur XIIIa. La fibrine réticulée est finalement dégradée par le processus

de fibrinolyse. La plasmine dissocie les liaisons croisées du réseau de fibrine et libère les produits de dégradation de la fibrine (PDF), comprenant une association croisée de deux molécules de fragment D (D-Dimère) de 200 kDa. Il a été constaté une élévation des taux de

D-Dimères circulants chez les patients atteints de thromboembolie veineuse, y compris une embolie pulmonaire (EP) et une thrombose veineuse profonde (TVP) (voir Goldhaber, S.Z. (1998) New Engl. J. Med. 339 ; 93-104).

2.1.2 Principes de test :

La procédure de test implique le dépôt de quelques gouttes d'échantillon de sang total ou de plasma recueilli sur EDTA dans l'emplacement échantillon de la membrane cassette-test. Après le dépôt de l'échantillon dans l'emplacement prévu à cet effet, les cellules du sang total sont séparées du plasma au moyen d'un filtre contenu dans la membrane cassette-test. L'échantillon réagit avec les anticorps fluorescents conjugués et migre le long de la cassette-test par capillarité. Des complexes de chaque conjugué d'anticorps fluorescents sont capturés sur une zone déterminée, ce qui permet un dosage par liaison.
La cassette-test est insérée dans les appareils Triage® Meter (appelé ci-après le Meter). Les résultats s'affichent sur l'écran du Meter et peuvent être imprimés. Tous les résultats sont stockés dans la mémoire du Meter ; ils peuvent être affichés ou imprimés à la demande. S'il est connecté, le Meter peut transmettre les résultats au laboratoire ou au système d'information hospitalier.

2.1.3 Matériels :

2.1.3.1 Réactifs et matériel fournis :

La cassette-test contient tous les réactifs nécessaires à la quantification des produits de dégradation de la fibrine réticulée contenant du D-dimère dans des échantillons de plasma et de sang total recueillis sur EDTA (anticoagulant).

La cassette-test contient :

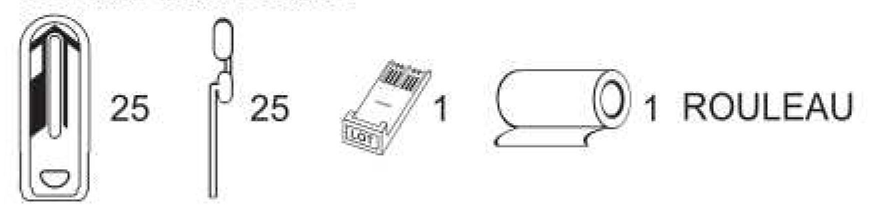
- Anticorp monoclonaux de souris anti D Dimères marqués

- Colorant fluorescents
- Phase solide
- Stabilisants

Test Triage® D-Dimer

No de réf. 98100

Contenu de la trousse :



Cassettes-tests	25
Pipettes de transfert	25
Module puce réactif codée	1
Papier imprimante	1 rouleau

<u>Schéma 1 : Matériels utilisés dans le test Triage D Dimer</u>

Avertissements et précautions :

- Pour usage diagnostique *in vitro*.
- Réservé à un usage médical professionnel.
- Ne pas utiliser le kit au-delà de la date de péremption imprimée sur l'extérieur de la boîte.
- Conserver la cassette-test dans son enveloppe scellée jusqu'au moment de son utilisation. La jeter après la première utilisation.
- Pour des résultats optimaux, les tests doivent être effectués à des températures comprises entre 20 °C et 24 °C (68 °F et 75 °F).
- Utiliser une pipette de transfert par échantillon. La jeter après la première utilisation.
- Les échantillons patient, les cassettes-tests usagées et les pipettes de transfert sont potentiellement infectieux. Observer les méthodes de manipulation et d'élimination conformes aux réglementations locales et nationales en vigueur.
- La manipulation d'échantillons patient potentiellement infectieux implique un respect systématique des techniques de laboratoire en vigueur en matière de sécurité.
- Le test Triage® D-Dimer ne doit pas être utilisé comme preuve définitive d'EP ou de TVP. Comme pour tous les tests diagnostiques *in vitro*, les résultats du test doivent être interprétés par le clinicien en fonction des données cliniques et des résultats des autres tests.
- Respecter rigoureusement les directives et les méthodes décrites dans cette notice.

2.1.3.2 Conditions de conservation et de manipulation :

- Conserver les cassettes tests au réfrigérateur entre 2°C et 8°C.
- Lorsqu'une cassette test est retirée de réfrigérateur , elle reste stable dans son sachet pendant 14 jours au maximum, mais pas au delà de la date de péremption indiqué sur le sachet.
- Ne retirer la cassette test de son sachet qu'à moment de son utilisation.
- Avant d'utiliser des cassettes test réfrigérées entre (2°C et 8°C), les laisser revenir à température ambiante dans leur sachet individuel. Au moins 15 min sont nécessaires.Si un coffret contenant plusieurs cassettes test est sorti de réfrigérateur, le laisser atteindre la température ambiante avant utilisation. Cela prend au moins une heure.
- Si la cassette test n'est utilisée le jour de sa sortie du réfrigérateur inscrire la date de son retrait et la date à laquelle il convient de la jeter sur son emballage et/ou sur le coffret contenant les cassettes-tests. Utiliser un feutre doux.

2.1.4 Méthode :

2.1.4.1 Prélèvement et préparation des échantillons :

- Pour effectuer des tests à l'aide de ce produit, il faut utiliser un échantillon de sang total ou de plasma veineux recueilli sur EDTA. En effet, il est recommandé d'utiliser des tubes en plastique d'EDTA K2 pour le prélèvement d'échantillons afin d'optimiser les performances
  du produit. L'utilisation d'autres matrices, méthodes de prélèvement ou anticoagulants n'a pas été évaluée.
- Analyser les échantillons de sang à l'aide de la cassette test immédiatement ou dans les 24 heures suivant leur prélèvement. Si le test ne peut pas être effectué dans les 24h, séparer le plasma et le conserver à -20°C jusqu'à réalisation de test.
- Transporter les échantillons à température ambiante ou sur glace et éviter les températures extrêmes.

- Lorsu’un échantillon apparaît hémolysé, il est préférable d’obtenir un autre prélèvement et de répéter le test.

2.1.4.2 Procédure d’exécution de l’examen :

Remarques de procédure

Les échantillons de plasma congelé et de sang total ou de plasma réfrigéré doivent atteindre la température ambiante avant le dosage. Bien mélanger les échantillons patient :

- Mélanger les échantillons de sang total en retournant doucement les tubes plusieurs fois avant leur dosage.
- Si possible, placer les tubes sur un mélangeur vortex pour mélanger les échantillons de plasma avant leur analyse.

2.1.4.2.1 Exécution du contrôle qualité du système Triage – Cassette-test CQ

Utiliser la cassette-test CQ pour vérifier le bon fonctionnement du Meter. Effectuer cette vérification chaque jour de réalisation des dosages patients. Consulter le Manuel d'utilisation du Triage pour des instructions complètes sur la cassette-test CQ.

- Effectuer cette vérification chaque jour que sont réalisés des dosages patients.
  1. La première fois qu'une cassette-test CQ est introduite dans le Meter, installer le module puce cassette-test CQ codée. **Une fois installées, les données du module puce cassette-test CQ codée sont enregistrées dans la mémoire du Meter. Le module puce cassette-test CQ codée n'a pas besoin d'être réinstallé après son installation initiale.**
     - Depuis l'écran principal, sélectionner **<Installez nvle puce>** et appuyer sur **Enter**.
     - Insérer le module puce cassette-test CQ codée dans le coin inférieur avant gauche du Meter. Suivre les instructions à l'écran.
     - Une fois le transfert de données terminé, retirer le module puce cassette-test codée CQ du Meter.
  2. Sélectionner **<Lancez l'analyse>** sur l'écran principal et appuyer sur **Enter**.
  3. Si l'ID utilisateur est activée, entrer votre numéro d'**ID utilisateu**r et appuyer sur **Enter**.

4. Sélectionner **<Cassette-test CQ>** et appuyer sur **Enter**.
5. Insérer la cassette-test CQ et appuyer sur **Enter**.
6. Le résultat indiquant si les paramètres testés sont satisfaisants ou non s'affichera (et/ou s'imprimera) à la fin du test. Chaque paramètre doit passer le contrôle de qualité avant de procéder aux dosages patients.
7. Retirer la cassette-test CQ du Meter et la placer dans la boîte noire qui lui est réservée.
   NE PAS JETER LA CASSETTE-TEST CQ.

2.1.4.2.2 Etalonnage du lot au moyen du module puce réactif codée

Lors de l'ouverture d'un nouveau lot de cassettes-tests, il est nécessaire de transférer les informations d'étalonnage et de la date de péremption de ce lot au Meter avant de procéder aux dosages patients. Utiliser le module puce réactif codée fourni avec le nouveau lot de cassettes-tests pour transférer les données au Meter.



Module puce réactif codée

Réaliser une fois pour chaque nouveau lot de cassettes-tests

1. Sélectionner **<Installez nvle puce>** sur l'écran principal. Appuyer sur **Enter**.
2. Insérer le module puce réactif codée dans le coin inférieur avant gauche du Triage Meter et suivre les invites à l'écran.



3. Une fois le transfert de données terminé, retirer le module puce réactif codé du Triage Meter.

2.1.4.2.3 Étalonnage de l’appareil :

Le test Triage® D-Dimer a été étalonné à partir d’une préparation protéique purifiée de D-dimère en tenant compte de la concentration (masse) de l’analyte présent dans le plasma EDTA (anticoagulant).

2.1.4.2.4 Dosage des échantillons patients:

ÉTAPE 1 : Ajouter l’échantillon patient

1. Ouvrir le sachet et écrire le numéro d’identification du patient sur l’étiquette de la cassette-test.
2. Presser complètement la plus grosse poire (supérieure) de la pipette de transfert et plonger l’embout dans l’échantillon.
3. Relâcher lentement la poire. Le capillaire de la pipette doit se remplir complètement et un peu de liquide doit s’écouler dans la plus petite poire (inférieure) de la pipette.
4. Placer l’embout de la pipette au-dessus de l’emplacement échantillon de la cassette-test et presser complètement la plus grosse poire. Tout l’échantillon contenu dans le capillaire de la pipette de transfert doit être déposé dans l’emplacement échantillon. Le volume d’échantillon restant dans la petite poire (inférieure) n’est pas expulsé.
5. Retirer l’embout de la pipette de transfert de l’emplacement échantillon puis relâcher la grosse poire (supérieure).
6. Jeter la pipette de transfert.

ÉTAPE 2 : Lancer l’analyse

1. Sélectionner <Lancez l’analyse> sur l’écran principal et appuyer sur Enter.
2. Sélectionner <Échant. patient> et appuyer sur Enter.
3. Entrer le numéro d’identification du patient et appuyer sur Enter.
4. Vérifier que le numéro a été correctement entré en sélectionnant
<Confirmez ID patient> et appuyer sur Enter. Si le numéro n’a pas été correctement entré, sélectionner <Corrigez ID patient>, appuyer sur Enter et recommencer l’étape précédente.

5. Insérer la cassette-test dans le Meter et appuyer sur Enter. Les résultats seront affichés à la fin de l'analyse.

Remarque : La cassette-test doit être insérée dans le Meter dans les 30 minutes suivant le dépôt de l'échantillon patient. Un délai de plus de 30 minutes peut aboutir à une mesure non validée, le résultat sera alors masqué et ne sera pas imprimé.

ÉTAPE 3 : Lire le résultat

1. Le résultat peut être imprimé en appuyant sur la touche Print.
2. Une fois qu'elle est éjectée du Meter, jeter la cassette-test.
3. Un résultat masqué indique que l'analyse n'est pas validée et qu'elle
doit être répétée.

2.1.5 Contrôle qualité :

Remarques sur les normes de contrôle qualité CLIA

Chaque cassette test est un Kit de détermination quantitative comprenant deux contrôles à différentes concentrations qui sont analysés automatiquement avec chaque échantillon patient, une solution de contrôle externe liquide ou un échantillon de contrôle des programmes d'assurance qualité. Si lavérification automatique de ces contrôles internes indique que les valeurs des contrôles se situent dans les limites établies lors de la fabrication, le Meter affiche un résultat pour le prélèvement ou l'échantillon dosé. Si la vérification automatique de ces contrôles internes indique que les valeurs des contrôles ne se situent pas dans les limites établies lors de la fabrication, aucun résultat de test n'est affiché. Par contre, le Triage® Meter affiche un
message d'avertissement ou d'erreur qui est décrit dans son manuel.

Conformément au bon pratique de laboratoire, les contrôles externes doivent être testés avec chaque nouveau lot ou livraison de produits de test ou tous les 30 jours, et ainsi qu'il est requis par le protocole standard de contrôle qualité du laboratoire. Les contrôles doivent être testés de la même façon que des échantillons patients. Lors de l'analyse d'échantillons

patients ou de contrôles externes, si un analyte échoue pour n'importe quelle raison (échec de contrôle interne ou contrôle externe hors plage), aucun résultat patient n'est affiché.

Cassette-test Contrôle qualité Triage® :

Procéder au_test de la cassette-test CQ chaque jour de réalisation des dosages patients pour vérifier la performance de l'appareil. La cassette-test CQ doit également être vérifiée lors de la mise en route du Meter et conformément aux exigences de contrôle qualité du laboratoire.
Procéder au test de la cassette-test CQ dans les cas suivants :

- Lors de la première mise en route du Meter ;
- Chaque jour que sont réalisés des dosages patients ;
- Lors du transport ou du déplacement du Meter ;
- En présence d'une incertitude face à la performance du Meter.

Remarque : Si la cassette-test CQ ou les Contrôles externes ne donnent pas les résultats attendus, relire les instructions précédentes pour s'assurer que le test a été correctement exécuté, recommencer le test puis contacter Biosite ou un représentant local de Biosite (consulter la section Assistance). Se reporter au manuel d'utilisation du Triage Meter pour une description complète du système de contrôle qualité.

2.1.6 Limites de la procédure :

Le résultat du test doit être évalué à la lumière de toutes les données cliniques et biologiques disponibles. Lorsque les résultats biologiques sont en désaccord avec l'évaluation clinique, des examens complémentaires sont alors requis.
Ce test a été évalué en utilisant du sang total ou du plasma veineux prélevés sur EDTA (anticoagulant). L'utilisation d'autres matrices, méthodes de prélèvement ou anticoagulants n'a pas été évaluée.

Il est possible que des facteurs, comme des erreurs techniques ou de procédure, ainsi que l'ajout de substances non énumérées ci-après dans les échantillons sanguins, interfèrent avec le test et faussent les résultats.

2.2 **ELISA rapide ou ELFA : test de Vidas Bio Mérieux**

2.2.1 Indication :

VIDAS D-Dimer New est le test d'analyse quantitative des D-Dimères le plus référencé et validé cliniquement pour une détermination immunoenzymatique des produits de dégradation de fibrine. Il se présente sous forme de barrettes à usage unique simples à utiliser qui sont la marque distinctive de la technologie VIDAS. En utilisant ce test, les laboratoires peuvent fournir aux services d'urgences des résultats rapides et fiables du dosage des D-Dimères par technique ELISA pour les patients suspectés de **TVP et PE (1)** Ils peuvent également donner des résultats quantitatifs, sans dilution ou dosage supplémentaire, des D-dimères dans des gammes de mesure plus élevées (10 000 ng/ml) pour d'autres applications cliniques.
Le test Vidas®D-dimer,considéré actuellement comme la méthode de référence, permet d'exclure de façon fiable au seuil de 500 ng/ml (VPN proche de 100 %) une MVTE associée à une probabilité clinique faible ou intermédiaire.

2.2.2 Principe de test :

La technique ELISA (**Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay**) de type « Sandwich » est une technique **immuno-enzymatique** de détection par fluorescence réalisée en deux étapes, qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps.
Le dosage est réalisé grâce à des barrettes et des cônes (où est fixé l'anticorps de capture) unitaires et un système de lecture en fluorescence. Un résultat quantitatif (courbe d'étalonnage du lot stockée dans le logiciel, allant de 0 à 10 000 ng/mL D-dimères) est obtenu en 20 minutes ; le seuil d'exclusion de la MTEV est fixé à 500 ng/mL.

Le principe du dosage associe la méthode immunoenzymatique sandwich en 2 étapes à une détection finale en fluorescence (ELFA). Le cône à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage. Les autres réactifs sont prêts à l'emploi et pré-répartis dans la cartouche.

Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument.

Elles sont constituées d'une succession de cycles d'aspiration/refoulement du milieu réactionnel. Après dilution, l'échantillon est incubé avec le cône. Celui-ci, sensibilisé au préalable par de l'antigène, fixe alors les anticorps présents dans l'échantillon.

Une première étape de lavage permet d'éliminer les composants non liés de l'échantillon. Une seconde étape d'incubation est ensuite réalisée avec l'anticorps monoclonal de souris anti-IgG humaines conjugué à la phosphatase alcaline, suivi d'une seconde étape de lavage. Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (4-méthylombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé par le cône ; l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit

(4-méthylombelliferone) dont la fluorescence émise est mesurée à 450nm.

La valeur du signal de fluorescence est proportionnelle à concentration d'anticorps présents dans l'échantillon. A la fin du test, les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument par rapport à une courbe de calibration mémorisée, puis imprimée.

2.2.3 Matériels et Méthode : VIDAS ® Technologie :

2.2.3.1 Principe de technique :

Le VIDAS utilise la technologie Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA) pour réaliser des dosages immunoenzymologiques (Sandwich, compétition indirecte, compétition et en immunocapture). La révélation se fait en fluorescence.

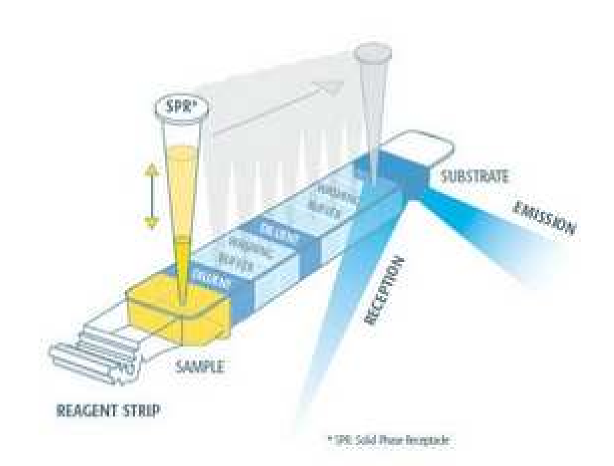
- Le VIDAS ® le système d'essai utilise un réactif uni-dose, prêt à l'emploi.

- 1. Le SPR ® agit comme une phase Solide le Réceptacle pour la réaction et est couvert d'antigènes ou des anticorps.

- 2. La Bande contient tous les réactifs exigés pour la réaction.

- **Le SPR agit comme un dispositif pipetting** :
- À chaque stade de la réaction, il aspire les réactifs. Ce concept original empêche n'importe quel inter réactif ou la contamination inter-type. De plus, l'absence de tuyau, des seringues et des aiguilles réduit, la maintenance de système au minimum.

- **Le système VIDAS** :
- utilise le principe d'ELFA, combinant la méthode d'essai d'ELISA avec une lecture fluorescente bleue finale. Cette technologie assure une excellente sensibilité ainsi qu'une bonne spécificité.



Technique Vidas Biomérieux (http://www.biomerieux.fr)

2.2.3.2 Simplicité

- Réactifs Uni-doses, prêts à l'emploi (1 patient = 1 essai (test))
- Kits de réactif Tout compris
- Robustesse de Système (VIDAS ® et mini VIDAS ® MTBF* > 2 ans)
- Calibrage tous les 14 jours
- Identification de code barres Automatisée

- Chargent et Vont
- Convivial
- Workflow Rationalisé (Aérodynamique) avec chargement optimisé d'essai

2.2.3.3 La flexibilité, où et quand vous en avez besoin :

- VIDAS ® : 5 sections à 6 essais (tests) indépendantes; mini VIDAS ® : 2 sections à 6 essais (tests) indépendantes
- Combinaison d'essai Multiple possible
- Grand menu ordinaire (plus de 80 paramètres dans Immunochimie et Maladies Infectieuses)
- Emballage Adapté (30 ou 60 essais (tests))
- Toujours disponible pour test de STAT

2.2.3.4 Qualité

- Aucun échantillon ou contamination croisée de réactif
- Qualité de Système reconnue dans le monde entier
- CV mis en évidence (surlignés) comme étant excellent par nombreux contrôles de qualité externes

2.2.3.5 Appareil de VIDAS BioMérieux :



Figure 3 : Appareil de Vidas BioMérieux (http://www.biomerieux.fr)

2.2.3.6 Utilisation en routine :

2.2.3.6.1 **Allumer l'appareil :**

Normalement, l'appareil reste allumé en permanence. Si nécessaire, allumer l'appareil en suivant l'ordre si dessous.

a - L'onduleur : attendre que le voyant vert arrête de clignoter

b - Le module analytique VIDAS : interrupteur située à gauche et en arrière du module. Le voyant orange s'allume sur la face module et celui-ci s'initialise.

NB: Si le module analytique a été éteint plus d’une heure, laisser chauffer pendant 30 minutes, l’arrêter 30 secondes et remettre sous tension. Cette opération permet de mémoriser une valeur du standard après stabilisation en température.

c - L’imprimante.

d - L’écran.

e - L’ordinateur.

- Appuyer simultanément sur Ctrl+Alt. +Suppr.

- Saisir dans la case utilisateur «vidas» et dans la case mot de passe «vidas».

Le bureau Windows NT apparaît.

- Cliquer deux fois sur l’icône VIDAS PC, l’écran d’initialisation apparaît.

- Cliquer sur la clé pour vous identifier.

2.2.3.6.2 Sortir les réactifs, les étalons et les contrôles :

Les réactifs (cônes et cartouches), sont conservés entre +2 et +8°C.

Porter les réactifs à température ambiante au moins 15 minutes avant utilisation.

Les étalons et les contrôles sont conservés : entre +2 et +8°C s’ils sont prêts à l’emploi.

D’autres doivent être réhydratés lors de leur première utilisation (noter la date sur le flacon) puis congelés et stockés à –20°C.

2.2.3.6.3 **Création d’une demande :**

- Cliquer sur le menu «chargement».

- Dans la case [ID échantillon], saisir soit le nom du patient, soit le numéro

d’échantillon (manuellement ou en scannant le code barre du tube échantillon).

- Saisir le code test VIDAS dans la case correspondante.

- Valider la demande en cliquant sur «créer» ou «F10».

N.B: La case «réserver» permet de transférer les demandes dans les sections prédéfinies lorsqu’elle est cochée ; sinon les demandes sont stockées dans la liste de travail et doivent être ensuite transférées dans les sections prédéfinies.

- Cliquer sur le numéro de la section prédéfinie à lancer ? le premier compartiment libre sur le module concerné est réservé.

2.2.3.6.4 **Lancement d’une série :**

- Cliquer sur l’icône «module analyseur» 1 ou 2.

Le tableau d’aide au chargement apparaît:

- Mettre les cônes et les cartouches (sans les pousser jusqu’au cran d’arrêt) en

s’assurant de leur conformité par rapport à leur position et à leur couleur.

- Distribuer les échantillons dans le premier puit des cartouches correspondant en respectant la quantité indiquée puis les pousser jusqu’au cran d’arrêt et s’assurer du clic.

- Fermer le compartiment du bloc cône.

- Lancer chaque compartiment en cliquant sur l’icône verte situé à gauche.

- Vérifier que la lumière verte s'allume au dessus du compartiment lancé.

2.2.3.6.5 Lecture des résultats :

L'heure de la lecture est notée sur le compartiment utilisé. L'impression des résultats est automatique.

Pour visualiser un résultat,

- Cliquer sur l'icône «résultat».

- Saisir la date de fin et la durée de l'intervalle.

- Cliquer sur la flèche courbée verte pour rafraîchir l'affichage de la liste.

Pour réimprimer un résultat, le sélectionner et

- cliquer sur l'icône «imprimante».

Pour réaliser le contrôle d'un résultat, le sélectionner et

- cliquer sur l'icône «ré analyse».

2.2.3.7 Panne de l'Appareil :

2.2.3.7.1 Panne informatique :

- Sortir le cédérom de sauvegarde de l'unité centrale.

- Eteindre tous les appareils et débrancher les onduleurs

- Désinstaller l'unité centrale et la remplacer par celle de réserve.

- Redémarrer le système (Allumer l'appareil), arrivé sur le bureau de

WINDOWS NT, ne pas démarrer le logiciel VIDAS PC

- Restauration des données sauvegardées (configuration, du logiciel, données patients et calibrations).

- insérer le cédérom de sauvegarde dans le lecteur de l'unité centrale de réserve.

- cliquer sur démarrer puis Exécuter et saisir la commande suivante : D:\bmx\

- Lancer le logiciel VIDAS PC en double cliquant sur l'icône correspondante.

2.2.3.7.2 Panne module analytique :

Si un module ne peut être utilisé, transférer les tests effectués dessus sur l'autre module :

- A partir de l'écran principal, cliquer sur l'Arbre de navigation.

- Cliquer sur configuration

- Cliquer sur Attribution des tests et déplacer les tests concernés en décochant le

paramètre sur le module en panne puis en le cochant sur l'autre module.

Les paramètres déplacés devront faire l’objet d’une nouvelle calibration sur l’autre module.

2.2.3.8 Maintenance de l’Appareil :

2.2.3.8.1 Maintenance Hebdomadaire :

2.2.3.8.1.1 Nettoyage intérieur des bloc cônes :

- Eteindre et débrancher le module analytique avant ces processus.

- Ouvrir complètement les compartiments contenant le bloc cônes.

- A l'aide un écouvillon en dacron imbibé de détergent,

- Nettoyer soigneusement l'intérieur de chaque fourreau

- Répéter l'opération précédente cette fois ci avec un nouvel écouvillon en dacron imbibé d'eau de Javel dilué au 1/10 avec de l'eau déminéralisée ou distillée

- Laisser agir pendant 10 min

- Rincer chaque fourreau à l'aide d'un nouvel écouvillon en dacron imbibée d'eau

déminéralisée ou distillée

2.2.3.8.1.2 Nettoyage de l'arrière du bloc cônes :

- Placer une éponge dans la pince hémostatique (extrémité de la pince dans l’éponge)

- Tamponner avec une éponge imbibée de détergent l'arrière du bloc cône en poussant un à un les fourreaux vers l'intérieur. Continuer le nettoyage comme pour les fourreaux.

2.2.3.8.2 **Maintenance Mensuelle :**

2.2.3.8.2.1 Nettoyage des plateaux cartouches :

- Eteindre et débrancher le module analytique avant ces processus.

- Tirer délicatement les plateaux cartouches jusqu'à la position la plus extérieure.

A l'aide d'une pince hémostatique et d'une éponge imbibée de détergent,

- Nettoyer soigneusement les six positions de chaque plateau cartouches en faisant glisser une éponge le long de chaque position.

- Continuer le nettoyage comme pour les fourreaux.

- Remettre les plateaux cartouches à leur position initiale

2.2.3.8.2.2 Nettoyage des bacs de récupération :

- Dévisser les deux vis du panneau frontal puis tirer pour l'enlever.

- Retirer complètement les bacs.

- Nettoyer chaque bac à l'aide d'une pince hémostatique et d'une éponge imbibée de détergent en évitant de mouiller l'éponge située en dessous

- Continuer le nettoyage comme pour les fourreaux.

- Replacer chaque bac en l’introduisant (sans forcer) dans les glissières latérales sous le câble électrique connecté sous le plateau cartouche.

- Remettre le panneau en place.

- Resserrer les vis sans forcer

- Rebrancher le module analytique

- Remettre l'interrupteur sur ON

- Laisser sous tension 45 min pour le préchauffage

- Remettre l'interrupteur sur OFF

- Attendre 1 min et le remettre sur ON

- Attendre la réinitialisation (au moins 10 min) avant d'utiliser à nouveau l'appareil

NB : Les écouvillons et les éponges sont à usage unique

2.2.3.9 **Contrôle de qualité système : test QCV**

- Préparer la liste des Sections prédéfinies (voir utilisation VIDAS PC 2.1.3)

- Cliquer sur le menu «chargement».

- Dans la case [ID échantillon], saisir le mois et l’année.

- Saisir le code test QCV dans la case correspondante.

- Saisir 30 dans la case X

- Valider la demande en cliquant sur «créer» ou «F10».

- Cliquer sur les numéros des sections prédéfinies à lancer.

- Cliquer sur l’icône «module analyseur» 1 ou 2.

- Mettre les cônes et les cartouches QCV (les pousser jusqu’au cran d’arrêt et s’assurer du clic) dans toutes les positions.

- Fermer le compartiment du bloc cône.

- Lancer tous les compartiments simultanément en cliquant sur l’icône verte situé en haut.

Interpréter les résultats conformément à la fiche technique.

- RFV lecture 3 : toutes les valeurs doivent être supérieures à 4300.

Si une position donne un résultat inférieur à 4300 : contacter l’Assistance Technique.

- TV1 : toutes les valeurs doivent être supérieures ou égales à 6,3. Si une position donne un résultat inférieur à 6,3, refaire une série de QCV sur tout le compartiment concerné.

Si l’erreur persiste, contacter l’Assistance Technique.

Technical specifications for VIDAS D-Dimer Exclusion (http://www.biomerieux.fr)

Code	DEX2
Reference	30455 (replaces VIDAS D-Dimer Exclusion ref. 30442)
Tests/kit	60 tests
Intended use	Exclude DVT and PE in outpatients with suspected VTE in conjunction with PTP
Sample type	Plasma (citrate)
Sample volume	200µl
Time to result	20 minutes
Results	Quantitative
Calibration	1 level (included) every 28 days; reconstitution with distilled water
Cut-off	500 ng/mL (FEU)
Linearity	45 to 10,000 ng/mL
Sensitivity	>99%
NPV	>99%
Specificity	35.7%
Between-lot reproducibility (at cut-off)	CV = 5.9%

2.2.3.10 Limites de test :

L'inconvénient est qu'il faut disposer de l'analyseur correspondant, en outre, le temps d'analyse est relativement long, 35 minutes environ, auquel il faut ajouter le temps de centrifugation.

2.3 agglutination de microparticules latex : Test de STA Liatest D Dimer

2.3.1 Indication :

La technique immuno-turbidimétrique STA®-Liatest®D-Di utilise des microparticules sensibilisées par deux anticorps monoclonaux anti-D-Dimères. Elle permet une mesure quantitative du taux de D-Dimères par augmentation de la turbidité du milieu réactionnel. Le STA®-Liatest®D-Di bénéficie d'automatisme intégral sur les automates STA Compact®, STA® et STA-R® à l'aide de réactifs prêts à l'emploi, pré calibrés et stables 15 jours à bord de l'appareil. Le résultat est obtenu en moins de 10 minutes.

Le STA®-Liatest®D-Di confirme au niveau de patients admis en urgence en centre hospitalier général sa praticabilité, sa rapidité d'exécution et ses performances dans le diagnostic d'exclusion de la maladie trombo-embolique veineuse (MTEV).

2.3.2 Principe de test :

Le dosage des D-Dimères par Sta-Liatest D-Di est basé sur la mesure photométrique de l'augmentation de turbidité d'une suspension de microsphères de latex : c'est ce qu'on appelle l'immunoturbidimétrie.
Deux anticorps monoclonaux de souris anti D-Dimères humains sont fixés par liaison covalente sur des microsphères de latex (diamètre 0.1 µm) et stabilisés pour en permettre une conservation prolongée. Lorsqu'un faisceau de lumière monochromatique de longueur d'onde très supérieure au diamètre des particules de latex traverse le mélange, la lumière n'est que très faiblement absorbée. En présence de l'analyse, la réaction antigène/anticorps entraîne une agglutination des particules de latex qui forment des agrégats de taille supérieure à la longueur d'onde du faisceau, et induisent une augmentation de la turbidité du mélange réactionnel qui absorbe alors davantage la lumière. Cette augmentation de turbidité est mesurée à 540 nm pendant 140 secondes. L'augmentation de l'absorbance est proportionnelle à la concentration de D-Dimères de l'échantillon testé.

2.3.3 Matériels et Méthode :

2.3.3 Composition et utilisation du kit Sta-Liatest D-Di :

Les coffrets Sta-Liatest D-Di comprennent un tampon réactionnel et une suspension de microparticules de latex recouvertes de deux anticorps monoclonaux de souris anti D-Dimères humains puis stabilisées avec de l'albumine bovine. Le coffret est conservé à 2-8°C et stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage.

La calibration est validée par le dosage de plasmas contrôles négatifs et positifs.

Le dosage est effectué en moins de dix minutes : l'automate ajoute 100 µl de tampon au plasma (50 µl), puis après 4 minutes à 37°c, 150 µl de réactif déclenchant est ajouté. La lecture du changement d'absorbance se fait à 37°c pendant 140 secondes et l'automate calcule la concentration en D-dimères correspondante.

2.3.3.2 Automate de dosage des D-Dimères par immunoturbidimétrie :

Le dosage quantitatif des D-dimères a été effectué sur un automate STA-R ®,
commercialisé par STAGO, avec des réactifs fournis eux aussi par STAGO (STA LIATEST D-DI). Il s'agit d'un dosage immunologique en phase solide dispersée des D-Dimères plasmatiques.

2.3.3.2.1 Description de l'automate STA R :

Le STA-R ® (version 2.30.04) est un automate multiparamétrique d'hémostase de grande capacité dont les performances analytiques sont très satisfaisantes.

Le STA-R ® permet de réaliser des dosages chronométriques, chromogéniques et immunologiques (nombre quasi infini de méthodologies ouvertes). L'automate travaille sur des tubes primaires ouverts de 5 et 2 ml ou sur du plasma dépourvu de plaquettes (PDP) décante dans des cones en plastique.

L'appareil possède un système de racks pour le chargement des échantillons et un tiroir pour le chargement des réactifs.

Apres centrifugation, les tubes primaires (débouches au préalable) sont chargés dans des racks de 5 tubes. Chaque tube échantillon est amène en face du lecteur de code à barre (système de « tourne tube ») afin que son étiquette soit lue. Les racks entrent ensuite dans la zone de pipetage de les analyses peuvent commencer (capacité du carrousel : 44 racks dont 2 en position de pipetage et 2 en mouvement).
Le tiroir interne est thermostat (15 à 19°C), et reçoit les réactifs, contrôles et étalons. Leur position est automatiquement reconnue par le « système d'identification positive » (capacité de 75 flacons de différentes dimensions).
Les principes de mesure sont identiques à ceux du STA ® (cf. guide Technique du STA®).
Le logiciel pilote l'ensemble (système d'exploitation sous Windows NT, écran tactile). II permet aussi les calibrations et leur mémorisation, la gestion totale des réactifs, l'identification des échantillons, l'édition et la sauvegarde des résultats, la gestion des contrôles de qualité II peut être relié à une informatique de laboratoire en connexion bidirectionnelle.

Le STA-R ® est un appareil monte sur roulettes, dont le principe général de fonctionnement est identique au STA ®.
II est toutefois plus encombrant du fait de la présence d'une zone de Chargement/déchargement des paniers de racks sur la gauche de l'appareil ; il nécessite d'être accessible des deux cotés de l'appareil (zone de chargement des bobines de cuvettes à droite) et place à l'abri de la lumière directe.
Lors de la réalisation des analyses, l'appareil est très peu bruyant.
Les nouveautés résident dans le chargement des tubes primaires et des réactifs. Les deux premiers tiroirs du STA ® permettant de charger les plasmas à analyser ont été remplacés par une zone de chargement/déchargement de paniers de racks. Le STA-R ® ne comporte donc plus qu'un seul tiroir permettant le chargement des produits (réactifs, tampons et étalons) et des contrôles de qualité (CQ).
Le logiciel multitâche prend en charge la gestion des CQ et des réactifs (volumes, stabilité). Pour un réactif donné, l'appareil est capable de gérer deux lots différents en même temps.
Le nombre de cuves de mesure en mode chromogène à double par rapport au STA ® (8 au lieu de 4).

Un écran tactile permet l'accès au différents menus proposes : Tableau de bord (analyses en cours), tableau des réactifs, gestion des CQ, (configuration des tests, touche - Aide -, touche - Urgence), protocole de maintenance (similaire à celui du STA®).

2.3.3.2.2 Contrôles de qualité :

En revanche, certains problèmes persistent et pourraient être améliorés.

• Lorsque les résultats d'un test présentent une anomalie, une simple icône non spécifique en forme de cloche vient s'afficher près de ce résultat, quelle que soit la gravité de l'incident (simple relance, dilution de l'échantillon, discordance importante entre deux valeurs pour la même analyse...). Dans ce dernier cas, le STA-R ® rend une valeur en faisant la moyenne entre les deux valeurs discordantes, associée à une alarme (cloche bleue). Dans la même situation, le STA ® n'affichait aucune valeur mais une alarme, Erreur, en rouge, ce qui attirait plus l'attention.

• Le tableau des contrôles de qualité journaliers n'est pas d'une lecture facile.

- Les résultats sont classés par ordre chronologique et non par tests (les contrôles hauts et bas d'une même analyse ne sont pas toujours sur la même page).
- Le commentaire « à valider » vient s'afficher à coté d'un résultat de CQ hors normes. Ce message n'est, à notre avis, pas adapté puisqu'il s'agit en fait de relancer le contrôle.
- Lorsque les CQ sont passés en double, il suffit que la deuxième valeur soit correcte pour que le CQ soit considère comme validé (quelque soit le taux de la première valeur du doublon) - contrairement au STA ® ou les deux valeurs du doublon devaient être dans les normes pour que le test soit validé (ce qui parait plus logique).

De manière générale, toute anomalie sur un test s'accompagne d'une alarme visuelle spécifique : un double-clic sur l'alarme amène directement sur le problème en question (redilution ou relance d'un échantillon, écart > tolérance pour les déterminations faites en double, résultats hors normes...). Le logiciel de gestion est donc plus sécurisé. Cependant, l'accumulation d'icônes et d'alarmes visuelles de visibilité discutable (petites tailles) nécessite une concentration accrue des techniciens.

Avantages :

Le STA-R ® présente plusieurs avantages par rapport au STA ®.

- Au plan technique, il est beaucoup moins bruyant et dégage moins de chaleur.
- Sur le plan informatique, le logiciel multi-tâches sous Windows NT est d'une utilisation facile et représente une amélioration certaine par rapport au STA ®.
- La gestion simultanée de plusieurs lots de réactifs permet d'anticiper sur les différents changements de lots. Lors des calibrations, la relance d'un seul doublon discordant est possible.
- L'analyseur peut garder en mémoire plus de 5 000 résultats, avec possibilité d'archivage sur disquette des données. L'archivage des contrôles de qualité peut se faire sur plusieurs années.

Tableaux V / Tableau comparatif STA-R® / STA®.		
Caractéristiques techniques	**STA-R®**	**STA®**
Précision	Bonne	Bonne
Contamination	Non	Non
Linéarité	Satisfaisante	Satisfaisante
Corrélations tests de routine	Bonne	Bonne
Corrélations tests « spécialisés »	Satisfaisante	Satisfaisante
Caractéristiques ergonomiques	**STA-R®**	**STA®**
Bruyant	Non	Oui
Gabarit	Important	Acceptable
Chargement des tubes	Racks automatiques	Manuel
Lecteur code à barre automatique	Oui	Non
Déchargement des tubes	Pas immédiat	Rapide
Nombre de cuve de mesure chromogène	8	4
Écran tactile	Oui	Non
Logiciel multi-tâches	Oui	Non
Gestion simultanée de plusieurs lots de réactifs	Oui	Non
Logiciel de contrôle de qualité	Complexe	Simple, rapide
Alarme indiquant une anomalie sur un test	Petite icône peu visible et peu spécifique	Test en rouge à l'écran

Tableau V : Tableau comparatif STA et STA R (http://www.snfmi.org)

Figure 4 : Appareil de STA R (www.Diagnostica Stago.com) :



3. Résultats :

1. Hémagglutination sur sang total : Test SimpliRed D dimer

Pour l'interprétation correcte des résultats, le profil d'agglutination dans les deux puits doit être noté.

• **Résultat positif :**

Signe visible d'agglutination présent dans le puits d'examen par rapport au puits de témoin négatif.

• **Résultat négatif :**

Absence d'agglutination visible dans le puits d'examen par rapport au puits de témoin négatif, suivie de la formation d'une réaction d'agglutination positive au test de confirmation réalisé avec le réactif témoin positif (voir l'étape 10, Méthode d'examen).

• **Les résultats ne sont pas valides si** :

- l'agglutination se produit dans le puits de témoin négatif
- le témoin positif ne provoque pas d'agglutination.

Les examens avec des résultats non valides doivent être répétés.

- **Valeurs attendues :**

Un résultat positif compatible avec une fibrinolyse active s'observe avec le test SimpliRED® D-dimer lorsque le taux de XL-FDP (D-dimères) est supérieur à 0,12 mg/l environ, mesuré à l'aide de la méthode quantitative de référence d'AGEN.

- **Caractéristiques de performances :**

Spécificité :

Les produits de dégradation de la fibrine réticulée D-dimères, D-dimères E et les dérivés à haut poids moléculaire sont tous reconnus par les anticorps monoclonaux du test d'agglutination sur sang total SimpliRED® D-dimer.

Aucune liaison aux produits de dégradation du fibrinogène X, Y, D et E ou au fibrinogène n'a été retrouvée jusqu'à 1000 mg/l (44).

Interactions avec d'autres substances :

Aucune interférence du SimpliRED® D-dimer vis-à-vis des dosages n'a été observée dans les échantillons auxquels ont été ajoutées les substances suivantes susceptibles d'exercer une interaction aux concentrations suivantes :

Bilirubine 0,2 mg/ml

Protéines (gamma-globulines) 50 mg/ml

Lipides (triglycérides) 10 mg/ml

Une interférence par le facteur rhumatoïde (sous forme de résultats faux positifs) a été observée à des concentrations supérieures à 200 UI/ml.

2. latex semi quantitatif : Test de Helena D-dimer

- **Interprétation des résultats :**

L'agglutination intervient dans les 180-200 secondes pour les échantillons contenant plus de 250 ng/ml de D-dimères. Le taux moyen de D-dimères dans une population saine va de 8 à 135 ng/ml et le plasma pur provenant d'individus sains ne devrait donc pas s'agglutiner. Helena D-dimer a une valeur prédictive négative élevée pour la thrombose(AS). La demi-vie des D-dimères dans le sang circulant est de 12 heures environ. Des taux élevés de D-dimères peuvent donc persister pendant un certain temps après cessation du processus actif.

Des études cliniques portant sur des sujets sains, des patients avec un diagnostic de thrombose veineuse profonde confirmé par phlébographie, des patients avec CIVD et des patients avec pré-éclampsie (Pré-EC) ont mis en évidence les résultats suivants :
Helena Résultat D-dimères†

Echantillons	H	-	1 :1	1 :2	1 :4	≥1:8
Normal	101	100	1*	-	-	-
TVP	48	3	10*	7*	14*	14*
CIVD	29	0	3	3	4	19
Pre-EC	6	2	1	3	-	-

† Les symboles η et - désignent respectivement le nombre de patients et un résultat négatif au test Helena D-dimer. Les titres correspondent au taux le plus élevé de dilution auquel l'échantillon démontre des signes d'agglutination.
*L'agglutination a été inhibée par addition d'anticorps MA-8D3 spécifiquement dirigés contre les D-dimères (0,2 mg/ml), mais l'ajout de l'anticorps PAM-1 indépendant est resté sans effet.

- **Caractéristiques de performance :**

Spécificité :
L'anticorps monoclonal utilisé dans cet appareil, MA-8D3, est spécifiquement dirigé contre les D-dimères en raison de la méthode de dépistage exploitée pour la sélection d'hybridomes
3. Un hybridome sécrétant des anticorps réagissant positivement aux D-dimères purifiés mais non au fibrinogène intègre ou au fragment D du fibrinogène a été sélectionné. Aucune forme de réactivité croisée avec le fibrinogène ou le monomère de fibrine de type I n'a été observée lorsque l'un ou l'autre des échantillons à analyser a été substitué au plasma dans cet essai. Le plasma de 16 patients atteints de polyarthrite rhumatoïde a été analysé et 14 de ces échantillons n'ont montré aucun signe d'agglutination avec le test Helena D-dimer. Les deux cas d'agglutination ont pu être inhibés par addition de l'anticorps monoclonal MA-8D3 spécifiquement dirigé contre les D-dimères, mais l'ajout d'un monoclone du même sous-

groupe, l'IgG1k (PAM-1) est resté sans effet. Ce résultat laisse à penser que Helena D-dimer n'est pas sensible aux troubles liés au facteur rhumatoïde.

Reproductibilité :

Trois échantillons de plasma ont été sélectionnés pour un test de reproductibilité. Chaque échantillon a été testé 10 fois par jour sur trois jours. Dans chaque cas, en cas de résultat positif, l'échantillon a été titré. Voici les résultats en D-dimères (ng/ml) :

Echantillons	Taux de D Dimères	Résultats
Normal	<250 ng /ml	Négatif
Intermédiaire	3000 ng/ml	Titre 1:8
Haut	>16 000 ng/ml	Titre 1:16

Tableau VI : Reproductibilité (52)

Exactitude :

La trousse Helena D-dimer a été comparée à une autre méthode d'analyse des D-dimères au latex parmi celles disponibles en commerce. Les deux produits ont donné une réaction négative suite à l'analyse de 25 spécimens normaux. Lors de l'analyse de 30 échantillons de plasma de patients avec ELISA et le test Helena D-dimer, tous les échantillons dépassant les 225 ng/ml avec ELISA ont montré des signes d'agglutination avec Helena D-dimer.

REMARQUES :

1. Les résultats peuvent être exprimés soit en D-dimères, soit en unités équivalent fibrinogène (UEF); 1 ng/ml de D-dimères équivaut à environ 2 ng/ml de UEF.
2. L'agglutination peut être plus prononcée et plus rapide pour des concentrations de D-dimères assez élevées.
3. Le bouchon en caoutchouc dans les fioles de contrôle doit être jeté après ouverture de la fiole.

3. ELISA membranaires : Test de Triage D Dimer

Le Triage® Meter mesure automatiquement l'échantillon patient. Les résultats s'affichent sur l'écran. L'opérateur peut alors imprimer les résultats s'il le souhaite.
Pour obtenir des informations supplémentaires, consulter le manuel d'utilisation du Triage Meter.

- **Domaine de mesure :**

  D Dimère : 100 – 5 000 ng/mL

- **Caractéristiques de Performances :**

Sensibilité analytique :
La sensibilité analytique définie comme étant la plus faible concentration détectable différente de zéro a été déterminée en testant 20 fois un calibrateur zéro et en utilisant à chaque fois 3 lots de réactifs et 5 Meters sur une période de 3 jours. La sensibilité analytique du test Triage® D-Dimer est la suivante :
D-dimère : 100 ng/mL Domaine de mesur

Subtances interférentes :
De l'hémoglobine (jusqu'à 500 mg/dL), des lipides (trioléine jusqu'à 3000 mg/dL), de la bilirubine (jusqu'à 15 mg/mL), du fibrinogène (jusqu'à 1 mg/mL), du fragment D (jusqu'à 20 µg/mL) ou du fragment E (jusqu'à 20 µg/mL) ajoutés au plasma EDTA (anticoagulant) contenant le D-dimère n'ont pas interféré avec la détection du D-Dimère. Ces substances ne génèrent
pas de réponse positive dans un échantillon ne contenant pas l'analyte recherché. Cependant, il est conseillé, dans la mesure du possible, d'éviter d'utiliser des échantillons fortement hémolysés. Lorsqu'un spécimen apparaît très hémolysé, il est préférable d'obtenir un autre échantillon et de le doser.

Des variations de 30% à 55% de l'hématocrite n'affectent pas de façon significative la détection du D-Dimère. Le facteur rhumatoïde n'a pas été testé.

4. Vidas Bio Mérieux (ELISA rapide ou ELFA) :

Le VIDAS D-Dimer Exclusion II mesure automatiquement l'échantillon patient. Les résultats s'affichent sur l'écran. L'opérateur imprime les résultats. Pour obtenir des informations supplémentaires, consulter le manuel d'utilisation du VIDAS D-Dimer Exclusion II.

- **Valeurs attendues :**

Un résultat positif compatible avec une fibrinolyse active s'observe avec le test Vidas BioMérieux D-dimer lorsque le taux de XL-FDP (D-dimères) est supérieur à 0,5 mg/l environ.

- **Interférences :**

En ce qui concerne le dosage avec la méthode Vidas D-Dimer Exclusion®, le lavage entre les différentes étapes et la dilution du plasma à tester pourraient expliquer l'absence d'interférence.
Il n'avait pas d'interférences avec l'hémoglobine (jusqu'à 300 micromol/L), les lipides de 30 g/l, la bilirubine de 537 micromol/L, l'Albumine humaine jusqu'à 60 g/l.

5. agglutination de microparticules latex : Test de STA Liatest D Dimer

- **Caractéristiques de la performance :**

Sensibilité et VPN :
La méthode Liatest avait une sensibilité de 100 % (intervalle de confiance à 95 %,97 à 100) et une valeur prédictive négative de 100 %(intervalle de confiance à 95 % , 94 à 100) avec une valeur seuil fixée à 500nglmL.

Etude de la précision :

Répétabilité

Les résultats, présentés dans le Tableau I, sont très satisfaisants pour l'automate STA R. Le Coefficient de Variation (CV%) est inférieur à 3% pour des valeurs à 2,05 µg/mL et inférieur à 5% pour des valeurs autour du seuil clinique (0,5 µg/mL).

	Intervalle d'Acceptation	Valeur cible		STA-R®
Contrôle normal (µg/mL)	0,00 – 0,50	0,25	N Moyenne Ecart type CV (%)	20 0,28 0,030 10,50
Contrôle pathologique (µg/mL)	1,65 – 2,45	2,05	N Moyenne Ecart type CV (%)	20 2,07 0,054 2,6

Tableau VII Etude la précision– Répétabilité (53)

Reproductibilité

Les résultats, présentés dans le Tableau II, sont très satisfaisants pour l'automate STA R. Le CV% est inférieur à 5% pour des valeurs à 2,05 µg/mL et inférieur à 7% pour des valeurs autour du seuil clinique (0,5 µg/mL).

	Intervalle d'Acceptation	Valeur cible		STA-R®
Contrôle normal (µg/mL)	0,00 – 0,50	0,25	N Moyenne Ecart type CV (%)	26 0,27 0,029 10,8
Contrôle pathologique (µg/mL)	1,65- 2,45	2,5	N Moyenne Ecart type CV (%)	26 2,04 0,051 2,5

Tableau VIII Etude la précision – Reproductibilité (53)

- **Interférences :**

Aucune contamination inter échantillons n'a été mise en évidence sur STA R.

Interférence de la Bilirubine

Sur le STA-R®, aucune influence de la Bilirubine n'a pu être mise en évidence pour des concentrations de Bilirubine allant jusqu'à 396 mg/L soit 678 µmol/L.

une interférence de la Bilirubine est à partir de 200 mg/L.

Interférence de l'Hémoglobine

Sur le STA-R®, il n'a été noté aucune influence de l'hémolyse sur le dosage des D-Dimères, pour des concentrations en Hémoglobine allant jusqu'à 13 g/L.

Interférence des Héparines

L'interférence par l'Héparine Non Fractionnée et par l'Héparine de Bas Poids Moléculaire a été testée sur le dosage des D-Dimères. Cette étude a permis de vérifier les spécifications du

fabricant, mais aussi de montrer que la quantification des D-Dimères est réalisable pour des patients traités par de l'Héparine.

Aucune influence de l'Héparine Non Fractionnée et de l'Héparine de Bas Poids Moléculaire n'a pu être mise en évidence sur le dosage des D-Dimères, pour des concentrations allant jusqu'à 3 UI/mL d'Héparine.

Ces résultats sont en accord avec les spécifications du fabricant qui annonce une interférence des Héparines (Non Fractionnées et de Bas Poids moléculaire) à partir de 2 UI/mL.

4.Discussion :

Même si les Technique ELISA conventionnelles (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) constituent toujours les techniques de référence, ces techniques présentent peu d'intérêt en routine, compte tenu de leurs contraintes de réalisation techniques (temps de réalisation peu compatible avec l'urgence, absence de dosage unitaire, coût. . .). Il existe aujourd'hui des techniques Elisa simplifiées, rapides et automatisées comme la technique ELISA rapide ou ELFA (enzyme linked immunofluorescent assay),qui reste une technique rapide (~35 min) entièrement automatisée et adaptée au dosage unitaire. Elle est observateur indépendant et présente une excellente sensibilité, mais l'inconvénient majeur est celui que représente l'achat de l'immuno-analyseur (VIDAS®D-Dimer Exclusion IITM, Biomérieux). Par contre, les principaux avantages des techniques d'agglutination quantitative de deuxième géneration résident dans leur rapidité d'exécution (quelques minutes), dans leur automatisation et dans leur coût généralement plus faible que les techniques Elisa. Sinon, l'agglutination de microparticules de latex, 1ère génération reste une méthode semi-quantitative basée sur l'agglutination visible de particules de latex couvertes des anticorps monoclonaux. Rapide et facile à réaliser, elle a une sensibilité médiocre et n'est pas utilisée dans le diagnostic d'exclusion de la MTE. Elle a inversement une bonne spécificité permettant son utilisation dans le diagnostic de CIVD.

Les tests par hémagglutination sur sang complet : basés sur une méthode semblable à celle de l'agglutination de microparticules de 1ère génération. Elle fournit un résultat qualitatif par la présence ou absence d'une hémagglutination visible. Elle est observateur dépendant et présente une sensibilité intermédiaire. Elle présente l'avantage d'être très rapide, et peut se faire au lit du malade en quelques minutes.

Alors, on peut conclure que les techniques ELISA de 2ème génération et les variantes techniques de l'ELISA ont supplanté les dosages ELISA classiques de référence qui avaient eux-mêmes supplanté les techniques au latex, pour des raisons diverses de sensibilité,coût, délai de rendu du résultat, etc…

Actuellement, les deux techniques les plus couramment utilisées sont les suivantes : Vidas D-Dimer®, bioMérieux et STA-Liatest® D-Di, Diagnostica Stago. La valeur de seuil critique habituellement utilisée dans les études consacrées aux D-dimères est de 500 µg/L.

Conclusion :

Le dosage des D-dimères est un examen largement disponible et dont les caractéristiques en font un test d'exclusion de la MTE particulièrement utile aux urgentistes. Il est intégré, en association avec l'évaluation de la probabilité clinique, dans les stratégies parfaitement validées de prise en charge d'une suspicion de MTE aux urgences. Cependant, les nombreux tests existant sur le marché aux performances diagnostiques différentes, imposent au clinicien de connaître le test qu'il utilise.

Les tests de type ELFA, ELISA classique, et les tests d'agglutination de microparticules de latex de 2eme génération ont des performances suffisantes pour permettre l'exclusion d'une MTE chez les patients ayant une probabilité pré test faible ou modérée. Les patients ayant une probabilité clinique élevée ne doivent pas avoir de dosage D-dimère et seront d'emblée évalués par des examens d'imagerie.

Ces règles de base doivent néanmoins être tempérées dans des situations particulières, que le clinicien doit connaître pour ne pas tomber dans un piège diagnostique. D'une part, les situations où le dosage de D-dimères peuvent mener à de faux négatifs : les patients ayant des symptômes depuis plus de 14 jours et les patients sous traitement anticoagulant (anti-vitamines K ou héparines). D'autres part, les situations où le dosage de D-dimères peut perdre de son utilité en raison d'un taux trop élevé de faux positifs : les patients âgés, cancéreux, hospitalisés, les suspicions de récidive de MTE et les femmes enceintes. Dans ces cas, l'utilité clinique du test diminue de par la proportion plus faible de patients qui auront un test négatif. Néanmoins, un résultat négatif permet, en association avec la probabilité clinique comme dans la population générale, d'exclure de façon sûre le diagnostic de MTE.

les techniques ELISA de 2ème génération et les variantes techniques de l'ELISA ainsi que les dosages ELISA classiques restent les techniques de référence les plus utilisées par rapport aux celles de latex, pour des raisons diverses de sensibilité,coût, et de délai de rendu du résultat.

Résumé :

Titre : D dimères : Techniques de dosage.

Auteur : Mlle ABROUKI Fatima Ezzahra

Mots Clés : D dimères, thrombose, ELISA, Latex

Les D-dimères (DD) produits de dégradation de la fibrine, et constituant principal du caillot sanguin, font aujourd'hui partie des examens de routine de laboratoire d'hématologie. Leur principale indication est le diagnostic d'exclusion d'une maladie thromboembolique veineuse (MTEV).

L'intérêt de notre travail est de souligner l'importance des techniques de dosage des D dimères, tout en rapportant les principes et les protocoles de ces techniques.

Le dosage automatisé des DD permet d'améliorer considérablement la qualité des résultats, d'assurer une meilleure reproductibilité et plus de précision. La valeur de seuil critique habituellement utilisée dans les études consacrées aux D-dimères est de 500 µg/L. L'automatisation apporte encore aujourd'hui de nouvelles innovations qui améliorent la qualité des analyses. Trois familles de kits sont disponibles sur le marché. Il s'agit de Techniques ELISA, considérées comme la méthode de référence, les techniques d'agglutination de nouvelle génération, sensibilisée et le plus souvent automatisables faisant appel à des techniques d'immunoturbidimétrie ou d'immunofluorescence et les techniques d'hémagglutination sur sang total qui permettent une détermination rapide mais uniquement qualitative.

SUMMARY

Title: D-dimers : Dosage techniques
Autor: Fatimaezzahra ABROUKI
Key words: **D dimere, thrombos, ELISA, Latex**

D-dimers (DD) fibrin degradations, and main constituent of the blood clot, are a part of routine examinations of laboratory of hematology today. Their main indication is the diagnosis of exclusion from a venous thromboembolic disease (MTEV).

The interest of our work is to underline the importance of the techniques of dosage of D dimères, while bringing back(reporting) the principles and the protocols of these techniques.The dosage automated by the DD allows to improve considerably the quality of the results(profits), to assure(insure) a better reproducibility and more precision. The value of threshold critical usually used in the studies dedicated to D-dimers is 500 µg / L.

The automation brings even today new innovations which improve the quality of analyses. Three families of kits are available on the market. It is about Techniques ELISA, considered as the reference method, the techniques of new generation, made sensitive agglutination and mostly automatisables calling to techniques of immunoturbidimétrie or immunofluorescence and the techniques of hemagglutination on total blood which allow a fast but only qualitative determination.

ملخص

العنوان: **تقنيات البحث عن د د يمر**
الكاتب: فاطمة الزهراء العبروقي
الكلمات الأساسية: **د د يمر – التجلط – Latex_ELISA**

الروتينية لأمراض الدم (DD)ديمر -نواتج تحلل الليفين والمكون الرئيسي لتجلط الدم، هي الآن جزء من الفحوص الوريدية الجلطات .(VTE).المؤشر الرئيسي منها هو تشخيص للاستبعاد من الدموية .المخبرية بتعلق المبادئ ، D-dimersمصلحة العمل لدينا هو تسليط الضوء على أهمية ف حوصات .والبروتوكولات من هذه التقنيات تأمين استنساخ ودقة أفضل, تحسين جودة النتائجDD يمكن للفحص الآلي لل هو 500ملغ /لتر -Dديمر دراسات قيمة العتبة الحرجة المستعملة في . نوعية التحليلالتشغيل الآلي لا يزال يجلب الابتكارات الجديدة التي من شأنها تحسين : من صناديق العدة متاحة في السوق ثلاث عائلات معتبرة كالطريقة المرجعية ELISAمن بينها تقنيات وتقنيات التغرية من الجيل الجديد وعيا وغالبا الآلي باستخدام تقنيات المناعية أو المناعي وتقنيات التراص في الدم .المشاركات والتي .تسمح بسرعة ولكن تقرير نوعي فقط

Références :

1.Rowbotham B.J., Carroll P., Whitaker A.N., Bunce I.H., Cobcroft R.G., Elms M.J. et al.Measurement of cross linked fibrin derivatives – use in the diagnosis of venous thrombosis. Thromb Haemost 1987 Feb 3 ; 57(1) : 59-61.

2.Bounameaux H., Schneider P.A., Reber G., de Moerloose P., Krahenbuhl B. Measurement of plasma D-dimer for diagnosis of deep venous thrombosis. Am J Clin Pathol1989 Jan ; 91(1) : 82-5.

3.Bounameaux H., Slosman D., de Moerloose P., Reber G. Diagnostic value of plasma D-dimer in suspected pulmonary embolism. Lancet 1988 Sep 10 ; 2(8611) : 628-9.

4.Bounameaux H., Cirafici P., de Moerloose P., Schneider P.A., Slosman D., Reber G. et al. Measurement of D-dimer in plasma as diagnostic aid in suspected pulmonary embolism. Lancet 1991 Jan 26 ; 337(8735) : 196-200.

5 .DIQUELOU, A.Physiologie de l'hémostase E.N.V.T., Certificat d'études supérieures d'hématologie et de biochimie clinique animales, Document pédagogique, 2000.

6. MAC CONNEL, M.F.Overview of haemostasis
In : DAY, M., MACKIN, A., LITTLEWOOD, J.Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine Gloucester : BSAVA, 2000, 165-171.

7.TROY, G.C.An overview of hemostasis
Vet. Clin. North Am.: Small animal practice, 1988, 18 (1) : 5-20.

8.Wakai A., Gleeson A., Winter D. Role of fibrin D-dimer testing in emergency medicine. Emerg Med J 2003 Jul ; 20(4) : 319-25.

9.Di Nisio M., Squizzato A., Rutjes A.W., Buller H.R., Zwinderman A.H., Bossuyt P.M. Diagnostic accuracy of D-dimer test for exclusion of venous thromboembolism: a systematic review. J Thromb Haemost 2007 Feb ; 5(2) : 296-304.

10.Roy P.M., Colombet I., Durieux P., Chatellier G., Sors H., Meyer G. Systematic review and meta-analysis of strategies for the diagnosis of suspected pulmonary embolism. BMJ 2005 Jul 30 ; 331(7511) : 259.

[11] Fattorini A, et al. Risk of deep vein thrombosis recurrence:high negative predictive value ofd-dimer performed during oralanticoagulation. Thromb Haemost 2002;88(1):162—3.

12.BAUER, K.A., KASS, B.L., Cate, H.T., HAWIGER, J.J., ROSENBERG, R.D.

Factor IX is activated in vivo by the Tissue Factor mechanism Blood, 1990, 76 (4) : 731-736.
13.FURIC, F., HERIPRET, D., OLIVRY, T. La coagulation intravasculaire disséminée chez le chien. Deuxième partie: étude retrospective de 20 cas cliniques. Prat. Méd. Chir. Anim. Comp., 1993, 28 : 53-62.
14.BONEU, B., CAZENAVE, J.P. Introduction à l'étude de l'hémostase et de la thrombose. Boehringer Ingelheim, Reims. 2ième édition, 1997, 281 pages.
15.Cadroy Y, Pierrejean D, Fontan B, Sie I', Boneu B. Influence of aging on the activity of the hemostatic system: prothrombin fragment 1+2, thrombin-antithrombin III complexes and D-dimers in 80 healthy subjects with age ranging from 20 to 94 years. Now Rev Fr Hknatol 1992;34: 43-46
16.Nolan TE, Smith RP, Devoe LD. MaternaJ D-dimer in normal and complicated pregnancies. Obstet Gynecol 993 ; 81 : 235-238
17. Raimondi P , Bangard O, de Moerloose P , Reber G, Waldvagel F,Bounameaux H. D-dimer
plasma concentration in various clinical conditions: implication of the use of this test in the diagnostic approach of venous thromboembolism. Thromb Res 1993 ; 69, 125-30
18.Reber G, Boehlen F. D-dim&s dam la pratique quotidienne. Feuillets de biologie, Vol. XXXVIII 1997; 8 :218
19.Bick RL. Disseminated intravascular coagulation : objective criteria for clinical and laboratory diagnosis and assessment of therapeutic response. Clin Appl Thrombosis/Hemostariz 19 9 5 ; 1 : 3-23
20.Di Nisio M., Squizzato A., Rutjes A.W., Buller H.R., Zwinderman A.H., Bossuyt P.M. Diagnostic accuracy of D-dimer test for exclusion of venous thromboembolism: asystematic review. J Thromb Haemost 2007 Feb ; 5(2) : 296-304.
21. Righini M., Perrier A., De Moerloose P., Bounameaux H. D-Dimer for venous thromboembolism diagnosis: 20 years later. J Thromb Haemost 2008 Jul ; 6(7) : 1059-71.
22. Bounameaux H. Contemporary management of pulmonary embolism: the answers to ten questions. J Intern Med 2010 Sep ; 268(3) : 218-31.
23.Perrier A., Desmarais S., Goehring C., de Moerloose P., Morabia A., Unger P.F. et al. D-dimer testing for suspected pulmonary embolism in outpatients. Am J Respir Crit

Care Med 1997 Aug ; 156(2 Pt 1) : 492-6.
24.Bosson J.L., Barro C., Satger B., Carpentier P.H., Polack B., Pernod G. Quantitative high D-dimer value is predictive of pulmonary embolism occurrence independently of clinical score in a well-defined low risk factor population. J Thromb Haemost 2005 Jan ; 3(1) : 93-9.
25.Perrier A. D-dimer for suspected pulmonary embolism: whom should we test? Chest 2004 Mar ; 125(3) : 807-9.
26. Durieux P., Dhote R., Meyniard O., Spaulding C., Luchon L., Toulon P. D-dimer testing as the initial test for suspected pulmonary embolism. Appropriateness of prescription and physician compliance to guidelines. Thromb Res 2001 Feb 15 ; 101(4) : 261-6.

27. BONEU, B., CAZENAVE, J.P. Introduction à l'étude de l'hémostase et de la thrombose. Boehringer Ingelheim, Reims. 2ième édition, 1997, 281 pages.
28. PRATER, M.R.Acquired coagulopathy II : liver disease
In : FELDMAN, B.F., ZINKL, J.G., JAIN, N.C.Veterinary Hematology Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore, 5ème édition, 2000, 560-564.
29. THAMM, D.H., HELFAND, S.C.Acquired coagulopathy III: Neoplasia
In : FELDMAN, B.F., ZINKL, J.G., JAIN, N.C.Veterinary Hematology Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore, 5ème édition, 2000, 565-570.
30. Caliezi C, Reber G, Lammle B, de MP, Wuillemin WA. Agreement of D-dimer results measured by a rapid ELISA (VIDAS) before and after storage during 24h or transportation of the original whole blood samples. Thromb Haemost. 2000;83(1):177–8.
31. Geersing G.J., Janssen K.J., Oudega R., Bax L., Hoes A.W., Reitsma J.B. et al. Excluding venous thromboembolism using point of care D-dimer tests in outpatients: a diagnostic meta-analysis. BMJ 2009 ; 339 : b2990.
32. Dempfle C.E., Zips S., Ergul H., Heene D.L. The Fibrin Assay Comparison Trial (FACT): evaluation of 23 quantitative D-dimer assays as basis for the development of D-dimer calibrators. FACT study group. Thromb Haemost 2001 Apr ; 85(4) : 671-8.
33. ANDERSON, D.R., WELLS, P.S. D-Dimer for the diagnosis of venous thromboembolism

Curr. Opin. Hematol., 2000, 7 : 269-301.
34. JOHNA, S., CEMAJ, S., O'CALLAGHAN, T., CATALANO, R.
Effect of tissue injury on D-Dimer levels : a prospective study in trauma patients
Med. Sci. Monit., 2001, 8 (1) : 5-8.

35. ROLLER, R.E., LAHOUSEN, T., LIPP, R.W., KORNINGER, C., SCHNEDL, W.J.
Elevated D-Dimer results in a healthy patient Blood Coagul Fibrinolysis, 2001, 12 : 501-502.
36. BOUNAMEAAUX, H.Valeur du D-Dimère dans l'approche diagnostique de la maladie thromboembolique veineuse. Sang Thrombose Vaisseaux, 1992, 4 (4): 255-259.

37. Wells PS, Brill-Edwards P, Stvens P, Panju A, Patel A, Douketis J, Massicote MP, Hirsh J, Weitz JI, Kearon C, Ginsberg JS. A novel and rapid whole-blood assay for D-dimer in patients with clinically suspected deep vein thrombosis. *Circulation* 1995 ; 91 : 2184-7.

38. Ginsberg JS, Wells PS, Brill-Edwards P, Donavan D, Panju A, Van Beek EJ, Patel A. Application of a novel rapid whole blood assay for D-dimer in patients with clinically suspected pulmonary embolism. *Thromb Haemost* 1995 ; 73 : 35-8.

39. Turkstra F, Van Beek EJ, Ten Cate JW, Büller HR. Reliable rapid blood test for the exclusion of venous thromboembolism in symptomatic outpatients. *Thromb Haemost* 1996 ; 76 : 9-11.

40. Reber G, Vissac AM, de Moerloose P, Bounameaux H, Amiral J. A new, semi-quantitative and individual ELISA for rapid measurement of plasma D-dimer in patients suspected of pulmonary embolism. *Blood Coag Fibrinol* 1995 ; 6 : 460-3.

41. Dale S, Gogstad G, Brosstad F, Godal HC, Holtlund J, Mork E, Brandsnes O, Borch SM. Comparison of three D-dimer assays for the diagnosis of DVT : ELISA, latex and an immunofiltration assay (NycoCard D-dimer). *Thromb Haemost* 1994 ; 71 : 270-4.

42. De Moerloose P, Desmarais S, Bounameaux H, Reber G, Perrier A, Dupuy G, Pittet JL. Contribution of a new, rapid, individual and quantitative automated D-dimer ELISA to exclude pulmonary embolism. *Thromb Haemost* 1996 ; 75 : 11-3.

43. Gaffney, P.J. Distinction between Fibrinogen and Fibrin Degradation Products in Plasma. Clin. Chim. Acta. 65: 109-115; 1975.

44. Rylatt, D.B. et al. An Immunoassay for Human D-dimer Using Monoclonal Antibodies. Thromb. Res. 31: 767-778; 1983.

45. Rylatt, D.B. et al. A Rapid Whole-Blood Immunoassay System. Med. J. Aust. 152: 75-79; 1990 John, M.A. et al. The SimpliRED® D-dimer Test: A Novel Assay for the Detection of Cross-Linked Fibrin Degradation Products in Whole Blood. Thromb. Res. 58: 273-281; 1990.

46. Dacie & Lewis. Practical Hematology 2001, Ninth Edition, page 12. AO. Dacie & Lewis. Practical Hematology 2001, Ninth Edition, pages 200-205.

47. Elms, M.J. et al.: Rapid detection of cross-linked fibrin degradation products in plasma using monoclonal antibody-coated latex particles. J. Clin. Path. 85, 360-364, 1986.

Declerck, P.V. et al.: Fibrinolytic response and fibrin fragment D-dimer in patients with deep vein thrombosis. Thromb. Haemostas. 58, 1025-1029, 1987.

48. Holovet P et al.: Binding properties of monoclonal antibodies against human fragment D-dimer of cross-linked fibrin to human plasma clots in an in vivo model in rabbits. Thrombosis and Haemostasis 61(2), 307-313, 1989.

49. Ballegeer, V. et al.: Fibrinolytic response to venous occlusion and fibrin fragment D-dimer levels in normal and complicated pregnancy. Thromb. Haemostas. 58, 1030-1032, 1987.

50. Hansson P.O. et al.: Can laboratory testing improve screening strategies for deep vein thrombosis at an emergency unit? J. Intern. Med.235, 143-151, 1994.

51. C Nougier, A.Marijon. Caractéristiques immuno-analytiques des D-dimères Immuno-analyse et biologie spécialisée (2012) 27, 83—88

52. Hansson P.O. et al.: Can laboratory testing improve screening strategies for deep vein thrombosis at an emergency unit? J. Intern. Med.235, 143-151, 1994.
53. A. FERRÉ1, D. MORIN1 et al. Performances analytiques du réactif STA®-Liatest® D-DI sur STA compact® et STA-R® pour le dosage des D-Dimères. SPECTRA BIOLOGIE n° 160 • Juin-Juillet 2007.

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaisse en restant fidèle à leur renseignement.

- D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humain.

- D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

- De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

- Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.



جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
— الرباط —

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمان الرحيم

أقسم بالله العظيم

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

"شهيد" "والله على ما أقول

- جامعة محمد الخامس – ا لسويسي
كلية الطب والصيدلة بالرباط

سنـــة: 2013 أطروحة رقم:61

تقنيات البحث عن د د يمر

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم:..............................

من طرف

الآنسة : فاطمة الزهراء العبروقي

المزدادة في : 20 شتنبر 1987 بالدارالبيضاء

لـنـيـل شـهـادة الـدكـتـوراه فـــي الصيدلة

الكلمات الأساسية: **د د يمر – التجلط – Latex_ELISA**

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

السيد : عبد القادر بلمكي **رئيس**
أستاذ علم الدم
السيد :عز العرب مسرار **مشرف**
أستاذ علم الدم البيولوجي
السيدة : : نزهة مسعودي
أستاذة مبرزة في في علم الدم البيولوجي
السيد : عبدالله دامي **أعضاء**
أستاذ مبرز في الكيمياء الإحيائية